Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. G. Röhrborn)

Untersuchung zur Embryotoxizität von Äthylalkohol beim Kaninchen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Beate Kreifels

1983

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. G. Röhrborn)

Untersuchung zur Embryotoxizität von Äthylalkohol beim Kaninchen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Beate Kreifels

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent:

gez.: Priv. Doz. Dr. Claussen

Koreferent:
gez.: Prof. Dr. Wirth

Meiner Mutter

Meinem Vater zum Gedenken

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0044

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. E I N L E I T U N G 1

1.1. Geschichtlicher Überblick 1
1.2. Die Alkoholembryopathie beim Menschen 2
1.3. Stadien der Alkoholkrankheit 3

2. L I T E R T U R Ü B E R S I C H T 4

2.1. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 188o und 192o 4
2.2. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 195o und 197o 5
2.3. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 197o und 1981 5

3. P R O B L E M S T E L L U N G 13

3.1. Problematik des pathogenetischen Wirkprinzips von Alkohol im Rahmen der Alkoholembryopathie.. 13
3.2. Bedeutung der vergleichenden in - vivo - Testung für teratologische Studien 14
3.3. Bedeutung des Stadiums der mütterlichen Alkoholkrankheit für Entstehung und Ausbildung der Alkoholembryopathie 15
3.4. Problematik der Übertragung von Ergebnissen aus tierexperimentellen Studien zur Alkoholembryopathie auf den Menschen 15
3.5. Darstellung der für die vorliegende Studie zu bearbeitenden Fragen 17

4. M A T E R I A L und M E T H O D E 21

4.1. Tierart und Tierhaltung 21
4.2. Art der Flüssigkeitsverabreichung 21
4.3. Deckprogramm und Gestation 22
4.4. Untersuchung von Uterus und Ovarien des Muttertieres 22

Seite

4.5. Makroskopische und röntgenologische Untersuchung der Feten 23
4.5.1. Inspektion der Feten 23
4.5.2. Präparation der Feten 24
4.5.3. Röntgen von Schädel, Rumpfskelett, Extremitäten und Vermessung der Schädel 24
4.6. Statistische Verfahren 28
4.7. Blutalkoholbestimmungen 29

5. E R G E B N I S S E 3o

5.1. Täglicher Flüssigkeits - und Futterverbrauch .. 3o
5.2. Blutalkoholspiegel 3o
5.3. Prä - und postimplantative Verluste, Mißbildungen, Retardierungen 34
5.3.1. Prä - und postimplantative Verluste, Mißbildungen 34
5.3.2. Gewicht, SSL und Schädelmaße der Feten.. 36

6. D I S K U S S I O N 4o

6.1. Diskussion der Einflußgrößen auf die Datengewinnung 4o
6.1.1. Art der Alkoholverabreichung 4o
6.1.2. Höhe der Alkoholaufnahme und der Blutalkoholspiegel 43
6.2. Beurteilung statistisch ausgewerteter Daten ... 45
6.2.1. Resorptionsrate und präimplantative Verlustrate 45
6.2.2. Mißbildungen 47
6.2.3. Gewicht, SSL, Schädelmaße 48
6.3. Zusammenfassende Beurteilung der Untersuchungsergebnisse 51

7. Z U S A M M E N F A S S U N G 52

8. L I T E R A T U R 54

1. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit wird Äthylalkohol auf seine Embryotoxizität beim Kaninchen nach chronischer Applikation untersucht.

1.1. Geschichtlicher Überblick

Der Alkohol - seit Jahrtausenden ein begehrtes Genußmittel in zivilisierten und unterentwickelten Völkern - ist uns heute als bedeutendste teratogene Noxe bekannt. Verse aus dem Alten Testament und historische Überlieferungen der alten Griechen zeigen, daß dem Alkohol schon seit langer Zeit eine schädigende Wirkung auf die Entwicklung der Nachkommenschaft zugeschrieben wurde (Majewski, 1979).

Für die Schädigung des Kindes durch chronischen mütterlichen Alkoholabusus sind folgende Termini bekannt :

- fetales Alkoholsyndrom
- embryofetales Alkoholsyndrom
- embryopathisches Alkoholismus - Syndrom
- Alkoholembryopathie

Der im amerikanischen Schrifttum gebräuchliche Terminus - fetales Alkoholsyndrom - ist nicht korrekt, da Alkohol als teratogene Noxe vornehmlich in der Embryonalzeit Wachstumsretardierung und Mißbildungen induzieren kann. In der Fetalzeit wird die in der Organogenese gestörte Fehlentwicklung nur verstärkt (Majewski, 1979). Aus diesem Grunde führte Majewski (1976) den Begriff " Alkoholembryopathie " ein.

Einen wesentlichen Beitrag zur Entdeckung der Alkoholembryopathie leisteten Berichte über die englische " Gin - Epidemie " 172o - 175o. In diesen Jahren war es der englischen Bevölkerung erlaubt, steuerfrei Schnaps zu destillieren. Den englischen Ärzten fiel damals das gehäufte Auftreten kranker und schwacher Neugeborener auf. Die Geburtenrate war ver-

mindert, die kindliche Mortalität in den ersten Lebensjahren außergewöhnlich hoch. Schon damals machte man die Trunksucht der Eltern für die gestörte Entwicklung der Kinder verantwortlich. Als unmittelbare Ursache wurde von einigen Autoren eine durch Alkohol hervorgerufene Keimschädigigung diskutiert. Andere fanden eine Erklärung in der Vererbung alkoholbedingter Schäden auf die Nachkommen (Majewski, 1979).

1.2. Die Alkoholembryopathie beim Menschen

Trotz zahlreicher Beobachtungen zum Thema Alkohol und Nachkommenschaft gelang es erst Lemoine et al. (1968) und Jones et al. (1973) unabhängig voneinander ein spezifisches Schädigungsmuster an Kindern von Alkoholikerinnen zu beschreiben.

Das klinische Bild der Alkoholembryopathie setzt sich aus folgenden Hauptsymptomen zusammen :

- intrauterine Hypotrophie
- Mikrozephalus
- statomotorische und geistige Retardierung
- typische Fazies (Epikanthus, Ptosis, verkürzter Nasenrücken, tiefe Nasolabialfalten, schmales Lippenrot, Retrogenie)
- vermindertes Wachstum und mangelhafte Gewichtszunahme nach der Geburt

Darüberhinaus treten bei alkoholkranken Frauen vermehrt Fehl- und Frühgeburten auf.

Die Pathogenese der Alkoholembryopathie ist bis heute noch weitgehend unklar. Als schädigende Noxe werden der Alkohol in unveränderter Form, der Acetaldehyd sowie alkoholbedingte Stoffwechselstörungen der Mutter diskutiert.

1.3. Stadien der Alkoholkrankheit

Beobachtungen von Majewski (1976, 1979) sprechen dafür, daß Häufigkeit und Ausprägung der Alkoholembryopathie weniger von der getrunkenen Alkoholmenge als vielmehr vom Stadium der mütterlichen Alkoholkrankheit abhängen. Hierbei unterscheiden wir nach Jellinek (1946, 196o) drei Phasen:

- Prodromalphase
- kritische Phase
- chronische Phase

Ein erheblicher, heimlicher Alkoholkonsum kennzeichnet das Prodromalstadium. Bei Kontrollverlust über die eigene Person geht diese Phase in die kritische Phase über. Regelmäßiges, schon morgendliches Trinken, aggressives Verhalten, psychische Entgleisung und Aufgabe sozialer Kontakte leiten schließlich die chronische Phase ein. Dieses Stadium ist durch organische Folgekrankheiten sowie geistigen und körperlichen Verfall gekennzeichnet.

Untersuchungen von Majewski (1976, 1979) zeigten, daß Kinder von Müttern in der chronischen Phase häufiger und vor allem stärker geschädigt waren als Kinder der Frauen, die sich in der kritischen oder prodromalen Phase befanden.

In zahlreichen experimentellen Studien an Tieren wurde versucht, die Wirkung des chronischen und akuten Alkoholkonsums auf die Embryonalentwicklung unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen.
Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich nun mit der Frage :
" Welchen Einfluß hat der chronische Alkoholkonsum des Muttertieres auf die Embryonalentwicklung beim Kaninchen? "
Ein Ziel ist es, als Basisuntersuchung einen weiteren Beitrag zu Erscheinungsformen und Pathogenese der Alkoholembryopathie zu leisten.

2. Literaturübersicht

2.1. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 188o und 192o

Frühe Studien zur teratogenen Wirksamkeit von Alkohol finden wir Ende des 19./Anfang des 2o. Jahrhunderts. Frère (1894) und Stockhard (1914) untersuchten die Wirkung von Aethylalkohol auf Hühnchenembryonen, indem sie Eier mit Alkoholdämpfen behandelten. Die Autoren beobachteten bei den Küken verringerte Größe und Gewicht, verschiedene Mißbildungen an Augen und Gliedmaßen und eine erhöhte Mortalitätsrate.

Pearl (1917) hingegen untersuchte den Alkoholeffekt auf Hühnchenembryonen, indem er Alkoholdämpfe auf Hennen einwirken ließ. Er konnte eine wachstumsretardierende und teratogene Wirksamkeit nicht beobachten.

Mehrere Studien beschäftigten sich mit dem Alkoholeinfluß auf Fische und Säugetiere :
Stockhard (191o) setzte Fischembryonen der Spezies Fundulus heteroclitus in Alkohollösungen von 2% bis 2o%. Lösungen von 2% bis 5% induzierten Augenmißbildungen.

Stockhard (191o), Hanson und Heyes sowie Durham und Woods (Jahrhundertwende, zitiert von Sandor und Elias, 1968) machten die Auswirkungen einer Alkoholbehandlung beider Eltern zum Gegenstand ihrer Studien an Guinea - Schweinen. Während Stockhard (191o) bei den Nachkommen Mißbildungen beobachtete, konnten Hanson und Heyes sowie Durham und Woods (Jahrhundertwende, zitiert von Sandor und Elias, 1968) eine teratogene Wirkung von Alkohol nicht bestätigen.

Gegensätzliche Ergebnisse ergaben auch die ersten Experimente, in denen nur die schwangeren, weiblichen Säugetiere alkoholisiert wurden :

Mairet und Cambemale (1888) und Hodge (1897, zitiert von Sandor und Elias, 1968) berichteten über verschiedene Mißbildungen und eine erhöhte Mortalitätsrate bei Hundeembryonen. Mac Dowell und Loud (Jahrhundertwende, zitiert von Sandor und Elias, 1968) hingegen fanden eine niedrigere postnatale Mortalität neben erhöhter intrauteriner Sterblichkeit. Nice (Jahrhundertwende, zitiert von Sandor und Elias, 1968) konnte in der Nachkommenschaft alkoholisierter Mäuse keine Veränderungen sehen.

2.2. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 195o und 197o

Anfang der fünfziger Jahre gewannen die teratogenen Untersuchungen über Alkohol neues Interesse.
1957 beobachteten Papara - Nicholson und Telford vermehrtes Auftreten von unreifen Nachkommen und Totgeburten bei Guinea - Schweinen. Die Muttertiere hatten während der Schwangerschaft 3 bis 4 Mal / Tag Alkohol bis zu 3 ml/kg/KG erhalten.

1968 wählten Sandor und Elias für ihre Untersuchungen die direkte Applikation von Alkohol in die Luftkammer der Hühncheneier bei verschiedenen Inkubationszeiten. Die initiale Konzentration im Eiweiß betrug 1o g%o, nach Äquilibrierung zwischen Dottersackflüssigkeit und Eiweiß 2 g%o. Die Studie zeigte eine gestörte embryonale Entwicklung. Dies wurde deutlich in einer erhöhten Mortalitäts - und Mißbildungsrate sowie verringertem fetalen Gewicht. Die Autoren betonen in ihrer Arbeit vor allem die Vielgestaltigkeit in der fetalen Dysmorphie, wobei Anomalien der Hirnventrikel und der Schwanzpartie dominierten.

2.3. Tierexperimentelle Studien zur Teratogenität von Alkohol zwischen 197o und 1981

1975 veröffentlichte Wah Jun Tze seine Tierexperimente zur Wirkung von mütterlichem Alkoholkonsum bei Ratten. Er bil-

dete drei Gruppen. Die Gruppe A erhielt vor und während der Schwangerschaft 3o% igen Alkohol und Futter ad libitum. Die Gruppe B wurde ohne Alkohol kalorienäquivalent ernährt. Die Kontrollgruppe C nahm Wasser und Nahrung ad libitum zu sich. Der mittlere Blutalkoholspiegel in der Gruppe A lag bei 61mg ± 23mg/1ooml. Die Ergebnisse zeigten verringerte Wurfgröße und verringertes fetales Gewicht in der Alkoholgruppe im Vergleich zu den Gruppen B und C. Trotz reduzierter Kalorienaufnahme zeigten die Daten der Gruppe B keine signifikanten Unterschiede zu denen der Gruppe C.

Kronick wählte 1976 in seiner Studie eine andere Applikationsart für Alkohol. Er injizierte schwangeren Mäusen 3oml/kg/KG 25% igen Alkohol intraperitoneal. Dabei wählte er für die :

Gruppe 1 die Gestationstage 8 + 9
Gruppe 2 die Gestationstage 1o + 11
Gruppe 3 einen der Gestationstage 7 bis 12

Die Alkoholbehandlung führte bei allen Gruppen mit Ausnahme der Tiere, die am 7. Gestationstag Alkohol erhalten hatten, zu einer Erhöhung der fetalen Mortalitätsrate. Beim Vergleich der fetalen Gewichte zeigte sich bei den Nachkommen der alkoholisierten Muttertiere nur ein leichter Trend zu geringeren Werten. Signifikant erhöht war jedoch die fetale Mißbildungsrate in den Gruppen, die am 8., 9. oder 1o. Gestationstag behandelt worden waren. Unter den Mißbildungen beobachtete Kronick vor allem Iriskolobome und Ektrodaktylie. Das gehäufte Auftreten dieser spezifischen Anomalien ließ Kronick auf eine kritische Phase für Iris - und Extremitätenentwicklung an den Tagen 8, 9 und 1o bei der Maus schließen.

1977 versuchte Chernoff, die Bedingungen des chronischen Alkoholismus beim Menschen im Tierexperiment nachzuahmen. Weibliche CBA - und C3H - Mäuse wurden 3o Tage vor und während der Schwangerschaft mit einer Flüssigdiät ernährt, die je nach Gruppe 15%, 2o%, 25%, 3o% oder 35% der Gesamtkalorien-

menge an Alkohol enthielt. Die gemessenen Blutalkoholspiegel zeigten Werte zwischen 73mg und 398mg/1ooml. Resorptions- und Mißbildungsrate wuchsen mit der Höhe der Alkoholaufnahme. Mangelhafte Ossifikation, Neuralrohrdefekte, Anomalien an Herz und Augen sowie geringeres Gewicht fielen bei den Feten alkoholisierter Mütter auf. Darüberhinaus beobachtete Chernoff bei seinen Versuchstieren Stammesunterschiede in der embryonalen bzw. fetalen Empfindlichkeit gegenüber der Alkoholexposition. Die Ursache für dieses Phänomen vermutete er in verschieden hohen Alkoholdehydrogenase (ADH) - Aktivitäten.

Randall, Taylor und Walker führten 1977 teratologische Untersuchungen an den Nachkommen weiblicher C57Bl / 6J Mäusen durch. Die Alkoholgruppe erhielt zwischen dem 5. und 1o. Gestationstag eine Flüssigdiät, in der 25% der täglichen Gesamtkalorienmenge durch Alkohol ersetzt wurde. Eine 2.Gruppe wurde ohne Alkohol kalorienäquivalent ernährt. Die Kontrollgruppe erhielt Standardfutter und Wasser ad libitum. Die Ergebnisse zeigten eine erhöhte Resorptions - und Mißbildungsrate in der Alkoholgruppe. Unter den Mißbildungen wurden Veränderungen an Gesichtsschädel, Augen, Herz, Skelett und Urogenitalsystem beobachtet. Beim Vergleich der Gewichte zeigten die nicht geschädigten Jungtiere der Versuchsgruppe keine Unterschiede zu den Kontrolltieren.

Im Gegensatz zu Kronick (1976), Chernoff (1977) und Randall et al. (1977) fanden Schwetz et al. (1978) in ihren vergleichenden Untersuchungen an Mäusen, Ratten und Kaninchen keinen durch Alkohol bedingten teratogenen Effekt. Als Zeitpunkt der Alkoholgabe wählten Schwetz et al. (1978) die Organogense, d.h. für Mäuse und Ratten den 6. bis 15. Gestationstag, für Kaninchen den 6. bis 18. Gestationstag. Die Versuchsgruppen erhielten 15% igen Alkohol und Futter ad libitum. Blutalkoholmessungen wurden an

nichtschwangeren Tieren vorgenommen. Die Maximalkonzentrationen lagen bei den Mäusen um 2oo mg/1oo ml, bei den Ratten und Kaninchen bei 5o mg/1oo ml bzw. 2o mg/1oo ml. Bei den Mäuse und Rattenfeten fielen signifikant erniedrigte Gewichte auf. Skelettmißbildungen wurden nicht gefunden, das Auftreten anderer Mißbildungen war in den Alkoholgruppen nicht erhöht. Eine signifikante Zunahme kleinerer Skelettveränderungen (Ossifikationsverzögerung, unvollständige Verschmelzung von Schädelknochen) führten die Autoren auf ein retardiertes fetales Wachstum zurück. Bei den Kaninchen fiel in der Alkoholgruppe eine Zunahme der Resorptionsrate auf das Doppelte der Kontrolle auf. Die Ursache für die hohe Steigerungsrate lag primär in der vollständigen Resorption zweier Würfe. Fetales Gewicht sowie die Mißbildungsrate waren bei Versuch und Kontrolle vergleichbar.
Schwetz et al. (1978) führten ihre zu Chernoff (1977), Kronick (1976) und Randall et al. (1977) gegensätzlichen Ergebnisse auf Unterschiede in Art und Zeitpunkt der Alkoholgabe sowie auf den schwankenden und niedrigen, mittleren Blutalkoholspiegel zurück.

Øisund et al. (1978) beschäftigten sich speziell mit der Frage, ob bescheidener Alkoholkonsum bei der Ratte teratogen sei. Weibliche Wistarratten erhielten 3 bis 4 Wochen vor und während der Schwangerschaft ein 12% iges Alkohol - Wasser - Gemisch als Trinkflüssigkeit und Futter ad libitum. In der Trinkflüssigkeit der Kontrolltiere ersetzte Sojaöl isokalorisch den Alkohol. Der Blutalkoholspiegel lag zwischen 67 mg/1oo ml am Morgen und 75 mg/1oo ml am Nachmittag. Die Werte beruhen auf einer einmaligen Messung an vier verschiedenen Ratten (jeweils 2 zu den gewählten Zeitpunkten). Die Ergebnisse zeigten in der Alkoholgruppe außer signifikant erniedrigten Wurfgrößen keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Körpergewicht und Organgewichte der Feten waren in beiden Gruppen vergleichbar. Aus den gewonnenen Daten zogen Øisund et al. (1978) den Schluß,

daß bescheidener Alkoholkonsum bei Rattenmüttern 3 bis 4 Wochen vor und während der Schwangerschaft keine teratogene Effekte auf die Nachkommen hat.

1979 verglichen Henderson et al. in ihren Studien gleichzeitig die Auswirkungen von chronischer und akuter Alkoholaufnahme auf Rattenfeten. Die Autoren beabsichtigten mit diesem Vorgehen, sowohl die Folgen des chronischen, mütterlichen Alkoholkonsums als auch die Effekte eines akuten Alkoholrausches an einigen Schwangerschaftstagen darzustellen. Die Gruppe 1 erhielt Alkohol durch eine tägliche, hohe intragastrische Einzeldosis vom 11. bis 13. Gestationstag, die Gruppe 2 vom 14. bis 16. Gestationstag. Der Gruppe 3 wurde an 3o Tagen vor und während der Schwangerschaft eine alkoholhaltige Flüssigdiät über den ganzen Tag angeboten. Die Kontrollgruppen wurden ohne Alkohol kalorienäquivalent ernährt. Die Alkoholaufnahme betrug bei allen Tieren ca. 3.7ml/Tag. Der maximale Blutalkoholspiegel stieg in der Gruppe 1 von 98mg/1ooml am 11. Tag auf 37omg/1ooml am 13. Tag , in der Gruppe 2 von 11omg/1ooml am 14. Tag auf 41omg/1ooml am 16. Tag. Das Tagesprofil der Gruppe 3 zeigte Werte zwischen 7omg/1ooml und 2oomg/1ooml. Die Ergebnisse zeigten in allen 3 Gruppen eine erhöhte Resorptionsrate gegenüber der Kontrolle. Stark vermindert waren Körpergewicht und Organgewichte. Mißbildungen wurden bei den Nachkommen nicht beobachtet.

1979 veröffentlichten Ellis, Pick und Diehl die Ergebnisse ihrer dreijährigen Studie zur Alkoholembryopathie an Beagle Hunden. Sie verabreichten durch eine liegende Magensonde zweimal täglich 25% igen Alkohol in verschiedenen Dosen. Die durchschnittliche Alkoholaufnahme betrug in

Gruppe A	2.4g/kg/KG
Gruppe B	3.og/kg/KG
Gruppe C	3.6g/kg/KG
Gruppe D	4.2g/kg/KG

Gruppe E 4.7g/kg/KG
Gruppe F 5.6g/kg/KG

Die Ergebnisse zeigten in den Gruppen A und B mit maximalen Blutalkoholspiegeln von 1oomg/1ooml bzw. 13omg/1ooml beginnende aber statistisch nicht signifikante Abweichungen von der Kontrollgruppe in Wurfgröße und - gewicht sowie in der Zahl der Totgeburten. Diese Abweichungen wurden in den Gruppen C und D mit maximalen Blutalkoholwerten von 175mg/1ooml bzw. 2oomg/1ooml statistisch signifikant. In der Gruppe E mit Maximalwerten von 25omg/1ooml konnte eine intrauterine Entwicklung festgestellt werden, die jedoch nach 6 bis 7 Wochen mit Spontanaborten endete. Die Gruppe F erreichte Blutalkoholwerte von 35omg/1ooml. Hier wurde eine intrauterine Entwicklung vollständig unterdrückt.

Die vorhergenannten Autoren zwangen ihre Versuchstiere zum Alkoholkonsum entweder durch Aufnahme einer alkoholhaltigen Flüssigdiät oder eines Alkohol - Wasser - Gemisches als einzig erreichbare Flüssigkeitsquelle. Im Gegensatz zu diesem Vorgehen entwickelten Dexter et al. (1979)ein Tiermodell zur Alkoholembryopathie unter Berücksichtigung des freiwilligen Alkoholkonsums analog zur freiwilligen Alkoholwahl des Menschen. Sie arbeiteten mit alkoholisierten schwangeren erst- und zweitgebärenden Sinclair S - 1 Miniaturschweinen, die schon 1.5 bzw. 2.5 Jahre vor der Schwangerschaft Alkohol ad libitum getrunken hatten. Die durchschnittliche Trinkmenge pro Tag betrug 4g Alkohol. Die Ergebnisse zeigten eine erhöhte Mortalitäts - und Mißbildungsrate unter den Nachkommen alkoholisierter Mütter. Die Autoren beschrieben Anomalien wie An - und Mikrozephalie, Skelett - und Organveränderungen. Besonders zahlreich waren diese Erscheinungen bei den Nachkommen der Mütter, die seit 2.5 Jahren tranken. Aus dieser Beobachtung leiteten die Autoren ab, daß die Dauer des Alkoholkonsums den Grad der embryonalen bzw. fetalen Fehlentwicklung entscheidend beeinflußt.

1979 wiesen Brown et al. die direkte embryotoxische Wirkung von Alkohol auf Rattenembryonen in vitro nach. Sie explantierten Rattenembryonen im Alter von 9.5 Tagen und kultivierten sie 48 Std. lang in Nährmedien mit Alkoholkonzentrationen von 1.5‰ und 3‰. Alle in Alkohol kultivierten Embryonen zeigten im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe ein signifikant vermindertes Wachstum des Körpers und des Schädels sowie eine verringerte Zunahme von DNA und Gesamtprotein. Das Ausmaß der Retardierung war abhängig von der Höhe der Alkoholkonzentration, der die Embryonen ausgesetzt waren. Grobe morphologische Anomalien fielen nicht auf.

Brock - Merle untersuchte 1981 am Kaninchen die direkte embryotoxische Wirkung von Äthanol mit der Dottersackmethode. Es handelt sich im Gegensatz zu Brown et al. (1979) um eine in - vivo - Testung. Drei Serien mit 2o, 4o und 8o µl Äthanollösung wurden getestet. Die Ergebnisse zeigten, daß Alkohol bei einmaliger Injektion in den Dottersack in hoher Dosierung (8oµl Dosis, entsprechend einer Äthanolkonzentration in der Dottersackflüssigkeit von 9.4‰) erhöhte Resorptions - und Mißbildungsraten verursachen kann. Signifikante Unterschiede zwischen Versuch und Kontrolle im Auftreten von Retardierungen bei Gewicht, SSL und Schädelmaßen konnten nicht festgestellt werden. In den 2o und 4o µl Serien (entsprechend 2.3‰ und 4.7‰ Äthanol) wurden keine embryotoxischen Wirkungen beobachtet.

In Ergänzung zu seinem Mausmodell von 1977 untersuchte Chernoff 198o den Zusammenhang zwischen mütterlichen Variablen (Stammeszugehörigkeit, Blutalkoholspiegel, Aktivität bzw. Induzierbarkeit der Alkoholdehydrogenase (ADH) und des mitochondrialen Alkohol-oxidierenden Systems (MEOS))und Häufigkeit sowie Ausmaß alkoholbedingter Schädigung bei den Nachkommen. CBA -, C3H - und C57 - weibliche Mäuse erhielten vor und während der Schwangerschaft gleiche Mengen einer Diät, in der 2o% der Gesamtkalorien durch Alkohol, bei den

Kontrolltieren durch Sucrose ersetzt waren. Die Ergebnisse zeigten signifikant erhöhte Resorptionszahlen (CBA - Mäuse) und Mißbildungsfrequenzen (CBA -, C3H - Mäuse) sowie signifikant erniedrigte mittlere Fetengewichte (CBA -, C3H - Mäuse). Mütterliche Blutalkoholspiegel, ADH - Aktivitäten und Induzierbarkeit der MEOS wurden mit den fetalen Parametern korreliert. Negative Korrelationen der fetalen Parameter mit mütterlichem Blutalkoholspiegel und Induzierbarkeit des MEOS sowie eine positive Korrelation mit mütterlicher ADH - Aktivität wurden festgestellt. Die Stammesunterschiede im Auftreten alkoholbedingter Schädigungen bei den Nachkomme der Maus sind nach Chernoff (1980) eher mütterlichen als fetalen Ursprungs. Chernoff (1980) schloß aus seinen Ergebnissen auf eine direkte Abhängigkeit zwischen Ausmaß der Alkoholembryopathie und mütterlichem Alkoholmetabolismus.

Die fragliche Pathogenese der Alkoholembryopathie veranlaßte Veghelyi et al. (1978), sich vor allem mit den Wirkungen des Acetaldehydspiegels auf die Embryonalentwicklung zu beschäftigen. Die Autoren führten eine Studie durch, in der sie trächtige Wistar - und Riopratten mit 40% igem Alkohol in einer Dosis von 10ml/kg/KG, mit Disulfiram und einer Kombination aus Alkohol und Disulfiram behandelten. Die Embryonen derjenigen Muttertiere, die entweder Alkohol oder Disulfiram erhalten hatten, zeigten keine Unterschiede zu den Kontrollgruppen. Nach gleichzeitiger Gabe von Alkohol und Disulfiram fielen jedoch eine erhöhte fetale Resorptionsrate, signifikant verminderte fetale Gewichte sowie Skelettreifungsstörungen auf. Aus diesen Ergebnissen schlossen Veghelyi et al. (1978) auf eine kausale Beziehung zwischen Höhe des mütterlichen Blutacetaldehydspiegels und fetaler Minderentwicklung.

3. Problemstellung

3.1. Problematik des pathogenetischen Wirkprinzips von Alkohol im Rahmen der Alkoholembryopathie

Zahlreiche klinische Beobachtungen (Lemoine et al. 1968, Jones et al. 1973, Majewski 1976, 1979, Majewski und Goecke, 1981) lassen keinen Zweifel mehr an der Existenz einer spezifischen Alkoholembryopathie zu. Unbeantwortet bleibt jedoch bis heute die Frage nach dem eigentlichen pathogenetischen Faktor bzw. Wirkprinzip, der dem embryonalen Alkoholsyndrom zugrunde liegt. Als schädigende Noxe werden, wie in der Einleitung schon erwähnt, der Alkohol in unveränderter Form, der Acetaldehyd sowie alkoholbedingte Stoffwechseländerungen der Mutter diskutiert. Eine weitere Möglichkeit der indirekten Wirkung von Alkohol oder seiner Metaboliten wäre über eine Beeinflussung der Plazenta oder plazentaähnlicher Strukturen gegeben. Dieser Mechanismus könnte einen partiell gestörten Stoffaustausch zwischen Keim und Mutter bedingen. Als Folge dieser veränderten Mutter - Keim - Beziehung wäre ein spezifisches Schädigungssyndrom möglich.

In den letzten Jahren wurde in Tierexperimenten und klinischen Studien versucht, der Klärung der Pathogenese näher zu kommen. Noch einmal sei auf das in der Literaturübersicht beschriebene Experiment von Veghelyi et al. (1978) hingewiesen. Er verabreichte trächtigen Ratten Alkohol und das den Acetaldehydabbau hemmende Disulfiram. Aus seinen Ergebnissen schloß er auf eine kausale Beziehung zwischen der Höhe des Blutacetaldehydspiegels und fetaler Minderentwicklung.

Beim Menschen wird die Rolle des Acetaldehyds als teratogegenes Agens in Frage gestellt. Der menschliche Embryo selbst ist zu einer Metabolisierung von Alkohol nicht oder nur in einem nicht meßbaren und vom Alter der Gestation abhängigen

Umfang fähig (Pikkarainen und Raiha, 1967); d.h. wenn der Embryo dem Acetaldehyd ausgesetzt ist, dann vorwiegend über den mütterlichen Alkoholabbau. Aufgrund seiner chemischen Struktur ist Acetaldehyd jedoch nicht plazentagängig (Kesäniemi und Sippel, 1975). Eine teratogene Wirkung über die oben erwähnte Beeinflussung der Plazenta ist dagegen nicht auszuschließen (Majewski und Goecke, 1981)

Darüberhinaus scheint Acetaldehyd eine hemmende Wirkung auf die Vitamin B_6 - Phosphorylierung auszuüben (Majewski und Goecke, 1981). Die Bildung von Pyridoxal - 5 - phosphat ist umso geringer, je stärker der Acetaldehydstoffwechsel gestört ist. Nach Majewski und Goecke (1981) nimmt gerade die Störung des Acetaldehydabbaus mit fortschreitendem Stadium der mütterlichen Alkoholkrankheit zu. Infolgedessen steigt der Mangel am Coenzym des Vitamin B_6. Der veränderte Vitamin B_6 - Metabolismus der Mutter muß somit als mögliche teratogene Noxe berücksichtigt werden. Ob er schon in einem frühen Stadium der Alkoholkrankheit zum Tragen kommt, ist bis heute fraglich (Majewski, 1979).

Entsprechend den Erfahrungen aus den Jahren nach dem 2. Weltkrieg scheint ein Zusammenhang zwischen Fehlernärung der alkoholkranken Mutter und Entstehung von Mißbildungen beim Kind nicht zu existieren.

3.2. Bedeutung der vergleichenden in - vivo - Testung für teratologische Studien

Bei der Prüfung einer jeden als teratogen vermuteten Substanz stellt sich die Frage, ob die Substanz oder seine Metaboliten direkt oder indirekt über eine Beeinflussung des mütterlichen Stoffwechsels bzw. der Plazenta auf den Keim wirken.
Zur Klärung entsprechender Fragestellung entwickelte Claussen

(1980) die vergleichende in - vivo - Testung am Kaninchen. Diese Methode verlangt getrennte Versuchsreihen, bei denen

1. die zu untersuchende Substanz dem Muttertier oral oder parenteral appliziert wird

und

2. unter vergleichbaren Bedingungen die zu untersuchende Substanz unter Umgehung des mütterlichen Organismus und der Plazenta direkt in den Dottersack des Embryos (Claussen und Broedersdorff, 1974) injiziert wird.

Die Ergebnisse aus beiden Versuchsreihen werden anschließend miteinander verglichen.
In der 1. Versuchsreihe, der Applikation der Substanz beim Muttertier, ist vor allem die Dauer der Verabreichung zu berücksichtigen. So kann eine kurzzeitige Gabe einer teratogenen Substanz den Keim unberührt lassen, während die chronische Applikation zu schweren Schäden führt.

3.3. Bedeutung des Stadiums der mütterlichen Alkoholkrankheit für Entstehung und Ausbildung der Alkoholembryopathie

Bei der Alkoholembryopathie nimmt der Aspekt der akuten (Alkoholgabe nur an bestimmten Gestationstagen) bzw. chronischen (vor und während der Schwangerschaft) Alkoholaufnahme eine äußerst wichtige Rolle ein. So beobachtete Majewski (1976, 1979, 1981), daß weniger die Menge des getrunkenen Alkohols als vielmehr das Stadium der mütterlichen Alkoholkrankheit Häufigkeit und Ausprägung der Alkoholembryopathie bestimmt. Majewski und Goecke (1981) diskutieren als Ursache für dieses Phänomen einen umso stärker gestörten Acetaldehydstoffwechsel, je weiter das Stadium der mütterlichen Alkoholkrankheit fortgeschritten ist. Erhöhte Acetaldehydspiegel könnten über eine plazentare Funktionsstörung teratogen wirken.

Dexter et al. (1979) bestätigen die beim Menschen gewonnenen Erfahrungen insoweit, daß sie bei den Nachkommen alkoholisierter Sinclair - S_1 - Miniaturschweinen eine Abhängigkeit in der Ausprägung der Mißbildungen von der Dauer der chronischen Alkoholaufnahme erkannten.
Beim Menschen ist zwar das von Jellinek (1946, 196o) beschriebene chronische Stadium nicht durch die Dauer des Alkoholabusus gekennzeichnet, es wird jedoch mit zunehmender Länge des Mißbrauchs wahrscheinlicher.

3.4. Problematik der Übertragung von Ergebnissen aus tierexperimentellen Studien zur Alkoholembryopathie auf den Menschen

Eine direkte Übertragung vom Tier auf den Menschen ist im Rahmen der Alkoholembryopathie nicht möglich. So lassen sich die von Jellinek (1946, 196o) beschriebenen drei Stadien der menschlichen Alkoholkrankheit im Tierexperiment mit Sicherheit nicht ohne weiteres nachvollziehen. Psychische Veränderungen und geistiger Verfall, die neben organischen Folgekrankheiten das chronische Stadium entscheidend charakterisieren, sind am Tier nicht oder nur unzureichend beurteilbar. Trotz der Probleme, die sich bei der Übertragung von Ergebnissen aus Tierversuchen auf den Menschen ergeben, können teratologische Studien aus ethisch - moralischen Gründen nur am Tier durchgeführt werden. Hier gilt es, möglichst alle in der Teratologie etablierten Versuchstiere (Maus, Ratte, Kaninchen) zu untersuchen. Auf diese Weise können tierartspezifische Reaktionen auf die geprüfte Substanz leichter erkannt und berücksichtigt werden.

Im Gegensatz zum Kaninchen liegen für Mäuse und Ratten Experimente sowohl zur akuten wie chronischen Alkoholaufnahme vor. So gelang es Chernoff (1977), bei den Feten chronisch alkoholisierter Mäuse Symptome der menschlichen Alkoholembropathie wiederzufinden. Randall et al. (1977) beobachteten

eine erhöhte Mißbildungsrate bei Mäusefeten nach kurzzeitiger Alkoholexposition. Schwetz et al. (1978) hingegen konnten in ihrer Studie an Mäusen einen teratogenen Effekt von Alkohol nicht bestätigen.
Unterschiede in der Art der Alkoholapplikation, Dauer der Alkoholgabe, Menge des aufgenommenen Alkohols und Höhe des Blutalkoholspiegels werden von den Autoren als Ursache für die verschiedenen Ergebnisse in Betracht gezogen.

Bei Ratten treten vergleichbare Unterschiede in den Ergebnissen der Tierexperimente auf. Henderson et al. (1978) beschrieben sowohl nach akuter als auch nach chronischer Alkoholaufnahme einen embryoletalen und wachstumsretardierenden Effekt. Mißbildungen waren jedoch nicht erkennbar.
Sandor und Amels (1968) hingegen beobachteten eine teratogene Alkoholwirkung bei Albino - Ratten.

Beim Neuseeländer - Kaninchen, das Schwetz et al. (1978) als erste in ihre Versuchsreihe aufnahmen, fanden sich nach oraler Alkoholaufnahme durch das Muttertier zwischen dem 6. und 18. Gestationstag außer einer erhöhten Resorptionsrate keine Hinweise auf eine teratogene Aktivität von Alkohol. Schwetz et al. (1978) führten ihre Versuche nur unter der Bedingung der kurzzeitigen Alkoholaufnahme durch. Ihre Ergebnisse machen keine Ausssage darüber, ob Alkohol bei chronischer Verabreichung nicht doch teratogen wirkt. Das Kaninchen wurde in dieser Hinsicht bis heute nicht untersucht.

3.5. Darstellung der für die vorliegende Studie zu bearbeitenden Fragen

Beobachtungen beim Menschen (Majewski,1976; 1979; Majewski und Goecke, 1981) und Tieruntersuchungen an der Maus (Chernoff, 1977; Schwetz et al. 1978) lassen andere embryonale und fetale Auswirkungen nach chronischer als nach

akuter Alkoholaufnahme auch beim Kaninchen vermuten.
Somit stellen sich für die vorliegende Arbeit folgende Fragen :

1. Kommt es beim Neuseeländer - Kaninchen durch chronische mütterliche Alkoholaufnahme zu geschädigten Nachkommen?
   Im Verlauf der Untersuchung muß der mütterliche Blutalkoholspiegel bestimmt werden, um Diskussion und Vergleich der Ergebnisse mit anderen Tierstudien zu ermöglichen. So fanden Schwetz et al. (1978) beim Kaninchen bedeutend niedrigere Blutalkoholwerte als bei der Maus.

2. Inwieweit können beim Kaninchen unter chronischer Alkoholaufnahme ähnliche Blutalkoholwerte wie von Schwetz et al. (1978) gemessen werden?
   Bestätigen sich die niedrigen Werte, so liegt das Interesse vor allem darauf, ob nicht nach längerdauernder Alkoholgabe trotz niedriger Blutalkoholkonzentrationen ein teratogener und bzw. oder wachstumsretardierender Effekt erkennbar wird.
   Werden alkoholbedingte Schädigungen sichtbar, so stellt sich als dritte Frage :

3. Inwieweit weisen diese Veränderungen Ähnlichkeiten mit der beim Menschen bekannten Alkoholembryopathie auf?

Bis heute ist es nur Chernoff (1977) gelungen, eine Vielzahl von Mißbildungen entsprechend den Veränderungen der menschlichen Alkoholembryopathie bei der Maus wiederzufinden. In diesem Zusammenhang muß auf die Gefahr von Fehlinterpretationen hingewiesen werden. So plante Chernoff (1977) seine Studie an der Maus mit der direkten Absicht, das fetale Alkoholsyndrom im Tier zu reproduzieren. (Zitat: " The full expression of the syndrome was not observed... Therefore,

to simulate human alcoholism and possibly reproduce a fetal alcohol syndrome...") Es liegt großes Interesse auf der Frage, inwieweit solche Beobachtungen an anderen in der Teratologie etablierten Tieren, in diesem Falle das Kaninchen, gemacht werden können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich wie die Studie von Schwetz et al. (1978) mit den embryofetalen Auswirkungen von mütterlichem Alkoholkonsum beim Neuseeländer - Kaninchen. Anders als bei Schwetz et al. (1978) jedoch wird Alkohol vom Muttertier über einen längeren Zeitraum vor und während der gesamten Schwangerschaft aufgenommen. Diese Untersuchung fehlt, wie oben erwähnt, für das Kaninchen. Aufgrund der Bedeutung von Dauer des mütterlichen Alkoholabusus bzw. Stadium der Alkoholkrankheit im Rahmen der Alkoholembryopathie bildet die Arbeit eine unbedingt notwendige Ergänzung zu Schwetz et al. (1978). Darüberhinaus wird sie als Teil 1 der Basisuntersuchung innerhalb der von Claussen (198o) am Kaninchen entwickelten in - vivo - Testung zur weiteren Klärung der Pathogenese der Alkoholembryopathie durchgeführt.

Vom theoretischen Ansatzpunkt sind für die Beurteilung der Alkoholembryopathie im Tierversuch im wesentlichen folgende fetale Parameter von Bedeutung :

intrauterine Hypotrophie (zu geringes Gewicht, zu kurze SSL)

Mikrozephalie

Es fällt auf, daß andere Untersuchungen am Tier bei der Schlußbewertung auf die Mikrozephalie zu wenig Gewicht legen. Der Grund dafür ist wohl folgender : Eine Schädelverkleinerung tritt erst mit zunehmendem Alter deutlicher hervor. Auch einem Arzt kann bei der Untersuchung des jungen Säuglings eine diskrete Verkleinerung von Umfang und Inhalt des Schädels ohne weiteres entgehen; dieses umso eher, wenn das Kind darüberhinaus nicht auffällig ist.

Die Mikrozephalie wurde bis heute in Tierstudien vernachlässigt, obwohl sie beim Menschen nach intauteriner Hypotrophie als relativ frühes Symptom der Alkoholembryopathie bekannt ist.
Deshalb legt die vorliegende Arbeit besonderen Wert auf die Vermessung des geröntgten Schädels. Typische Veränderungen beim alkoholgeschädigten Kind wie craniofaziale Dysmorphie und Verminderung des Subkutanfetts verlangen, nicht nur die einzelnen Schädelparameter, sondern auch ihre Beziehungen zueinander zu betrachten (siehe 4.5.3.).

So könnte der Vergleich der Differenzen aus Längsdurchmessern des Schädels mit und ohne Weichteilschatten eine Verminderung des Subkutanfetts erkennen lassen. Die Quotienten aus den Längsdurchmessern des knöchernen Schädels und den Abständen zwischen Lamina horizontalis ossis palatinae und oralem Schädelpol könnten darauf hinweisen, ob eine Verkürzung des Schädels vornehmlich durch eine Minderentwicklung des Gesichtsschädels verursacht wird.

Bei der Auswertung der Daten ist nicht zu verkennen, daß es mangels Vergleichsuntersuchungen und wegen des fließenden Übergangs von normal zu frühpathologisch schwierig sein kann, zwischen diesen beiden Bereichen zu differenzieren.

4. Material und Methode

4.1. Tierart und Tierhaltung

Versuchstiere waren Kaninchen der Rasse Weiße Neuseeländer aus einem für Versuchszwecke gezüchteten Stamm der Kaninchenfarm Kostrop, Meerbusch - Bösinghoven. Das Alter der Tiere lag zwischen 6 Monaten und 2 Jahren, ihr Gewicht zwischen 2kg und 5.5kg.

Die Kaninchen wurden einzeln in Metallboxen in einer Klimakammer des Tierhauses der Universität Düsseldorf gehalten. Bei einer Temperatur von 22° C, einer Luftfeuchte von 55% ± 5% und einem 12 Std. - Tag - Nacht - Rhythmus unterlagen sie ständig gleichbleibenden äußeren Bedingungen.

Es wurden 62 Tiere eingesetzt. Die Zuteilung zur Alkohol - bzw. Kontrollgruppe erfolgte randomisiert. In die Auswertung kamen jeweils 15 erfolgreich gedeckte Tiere.

4.2. Art der Flüssigkeitsverabreichung

Alkoholgruppe :

Sofort nach Lieferung wurden die Tiere 14 Tage lang zur Eingewöhnung mit standardisiertem Trockenfutter der Firma Höveler, Langenfeld (Inhaltsstoffe : 16% Rohprotein, 14% Rohfaser, 1.2% Ca, o.5% P) und Wasser ad libitum ernährt. Für mindestens weitere 75 Tage bis zum Eintreten einer Schwangerschaft und während der gesamten Gestationszeit erhielten die Tiere statt Trinkwasser ein 15% iges Wasser - Alkohol - Gemisch und Trockenfutter ad libitum.
Die Flüssigkeit wurde den Kaninchen in skalierten Plastikflaschen mit Metallnippeln angeboten. Futter - und Alkoholverbrauch wurde in zweitägigen Abständen notiert.

Kontrollgruppe :

Die Kontrollgruppe erhielt während der gesamten Dauer des Versuchs Trinkwasser und Trockenfutter ad libitum.

4.3. Deckprogramm und Gestation

Die Paarung der Alkohol - und Kontrolltiere mit nicht alkoholisierten Rammlern des gleichen Stammes erfolgte auf natürliche Weise. Es wurde doppelt belegt. Mit großer Sicherheit konnte am 9. Tag der Gestation (Tag o = Tag, an dem die Muttertiere belegt wurden) durch Betasten der gedeckten Tiere in der Uterusgegend eine Gravidität festgestellt werden. Die Keimanlagen ließen sich hier als prall - elastische, kirschgroße Gebilde fühlen.

4.4. Untersuchung von Uterus und Ovarien des Muttertieres

Am 28. Tag post conceptionem (p.c.) wurden die graviden Weibchen durch i.v. Injektion von 5 ml Equisetin - Ersatz oder Nembutal getötet. Nach sofortiger Öffnung des Abdomens konnten Uteri und Ovarien entnommen, die übrigen Organe der Muttertiere nach makroskopischer Untersuchung in Formalin eingelegt werden.

Nach Entfernung der Eihäute wurden Zahl und Position lebender und toter Feten sowie der Resorptionen bestimmt. An den Uteri waren Resorptionen verschiedenen Grades aufgrund ihrer typischen Morphologie differenzierbar :

Resorptionen 1. Grades = frühe Stadien, sie sind vom physiologischen Uterusrelief kaum zu unterscheiden, haben eine gelbe Farbe und eine zerklüftete Oberfläche.

Resorptionen 2. Grades = Resorptionen zu einem späteren Zeitpunkt; sie sind von papulöser Form

und fester Konsistenz. Gallertige Substanzen bilden häufig das Zentrum dieser Resorptionsareale.

Resorptionen 3. Grades = sehr späte Stadien; hierbei sind verschieden weit entwickelte Keime deutlich zu erkennen.

Es kamen nur Resorptionen 2. und 3. Grades zur Auswertung. Diese wurden in der statistischen Berechnung zusammengefaßt.

An rechten und linken Ovarien eines jeden Muttertieres wurden Gelbkörper, erkennbar als über das Niveau des Keimepithels hinausragende Vorwölbungen, gezählt und notiert.

4.5. Makroskopische und röntgenologische Untersuchung der Feten

Zur Untersuchung auf Wachstumsretardierungen und Mißbildungen wurden die Feten vermessen, präpariert und die Skeletteile geröntgt. Das Gewicht wurde mit einer elektrischen Waage (± o.1g), die SSL mit Stechzirkel und Lineal (± o.1cm) bestimmt.

4.5.1. Inspektion der Feten

Die makroskopische Untersuchung auf Mißbildungen begann mit der äußeren Betrachtung von :

Kopf : Kopfform, Kopfgröße, Augenwölbung, Augenlid, Schnauze (Lippen - Kiefer - Gaumenspalte)

Rumpf : Proportionen, Fettverteilung, Nabel, Länge des Schwanzes, Brustkorb

Rachenraum : Die Betrachtung des Rachenraumes nach Öffnen des Mundes erlaubte die Untersuchung auf vorhandene Gaumenspalten und regelmäßigen Verlauf der Gaumenfurchen.
Das Sondieren von Ösophagus und After diente der Feststellung von Atresien.

4.5.2. Präparation der Feten

Nach Hautablösung erfolgte die äußere Betrachtung von :

Schädel : große und kleine Fontanelle, Schädelnähte (Synostosen?)

Rumpf : Symmetrie des Bauchfetts am Hals und zwischen den Schulterblättern

Bauch - und Brustraum : Das Eröffnen des Bauch - und Brustraumes erlaubte die grobe Beurteilung von :

Leber, Magenblase, Darmkonvolut, Gallenblase, Milz, Niere Ureter, Blase, Gonaden, Zwerchfell, Lunge, Herz

Die Organe wurden vom Skelett getrennt und in Formalin eingelegt.

4.5.3. Röntgen von Schädel, Rumpfskelett, Extremitäten und Vermessung der Schädel

Der Schädel wurde vom Rumpf getrennt, die Schädelkalotte aufgeschnitten und abgetrennt, der Unterkiefer abgelöst.
Die Schädel eines Wurfes wurden auf einen verpackten Röntgenfilm gelegt (Structurix D 4 p DW, Agfa Gevaert, Leverkusen; nach Sterz und Notdurft (1975)).
Die Aufnahme wurde mit einem Mammographen (Senograph, Typ Homologue) bei einer Einstellung von 35 mA und 25 kV vorgenommen. Für die automatische Entwicklung verwandte man ein Dupont

Gerät.

Anhand der Röntgenaufnahme wurden 5 Parameter festgelegt (siehe Abb. 1), die eine systematische Vermessung der geröntgten Schädel ermöglichte. Die Vermessung erfolgte mit Stechzirkel und Schublehre ($\pm$ 0.1 mm).
Folgende Parameter wurden gewählt :

- S_1 - Längsdurchmesser des knöchernen Schädels plus Weichteilschatten des perioral zurückgebliebenen Hautareals
- S_2 - Längsdurchmesser des knöchernen Schädels
- S_3 - Abstand zwischen Choanen (Lamina horizontalis ossis palatinae) und oralem Schädelpol
- S_4 - Abstand zwischen Tuberculum sellae turcicae und occipitalem Schädelpol
- S_5 - biparietaler Durchmesser

Die gemessenen Werte der 5 Parameter wurden zwischen Alkohol - und Kontrollgruppe verglichen.
Zudem wurden die Differenzen von S_1 und S_2 und die Quotienten aus S_2 und S_3 zum statistischen Vergleich herangezogen.

Rumpfskelett und Extremitäten wurden zur röntgenologischen Untersuchung wie folgt vorbereitet :

Hintere und vordere Extremitäten wurden stumpf vom Rumpf gelöst. Der Rumpf wurde durch Zerschneiden der Rippen in der Axillarlinie in einen vorderen (Sternum und Rippenansatz) und einen hinteren Teil (Wirbelsäule mit Rippenursprung) zerlegt.
Die Skeletteile wurden wie die Schädel auf einem Röntgenfilm angeordnet und geröntgt (siehe Abb. 2).

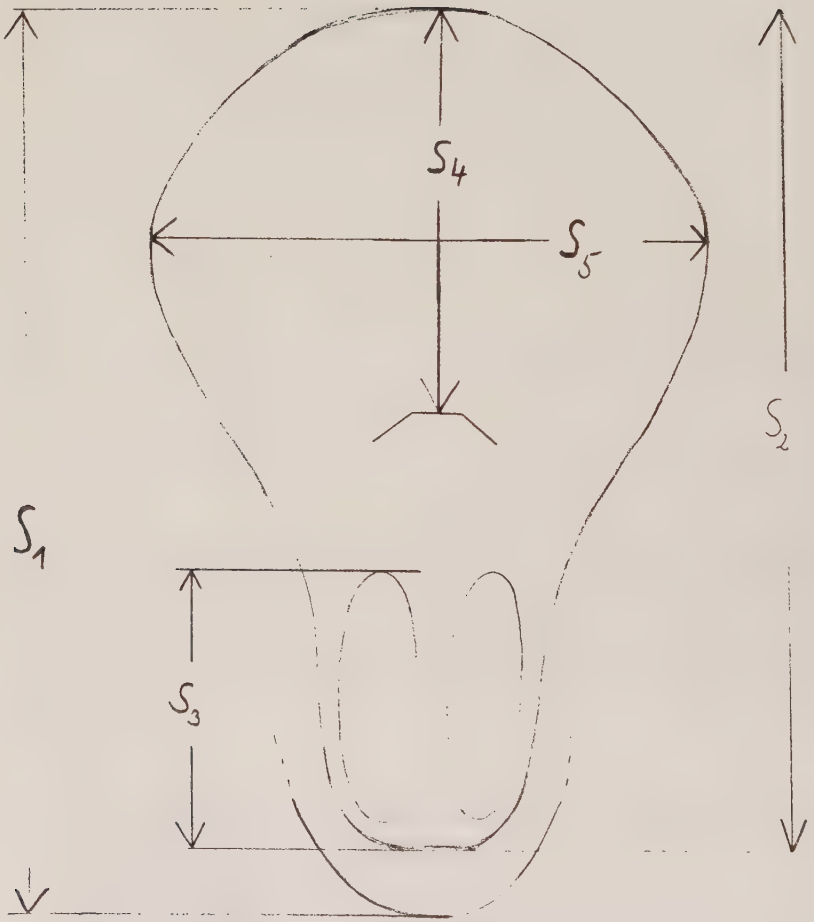

Abb. 1 : Parameter der Schädelvermessung am Röntgenbild

Abb. 2: Anordnung der Skeletteile auf dem Röntgenfilm

(zu Demonstrationszwecken wurde der Schädel auf dieser Aufnahme zusammen mit den anderen Skeletteilen abgebildet)

1 = Schädel (ohne Kalotte und Unterkiefer)
2 = Schädelkalotte, 3 = Unterkiefer
4 = vordere Extremitäten, 5 = hintere Extremitäten
6 = Sternum mit Rippenansätzen
7 = Wirbelsäule mit Rippenursprüngen

4.6. Statistische Verfahren

In die statistische Auswertung gingen die relative präimplantative Verlustrate, die relative Resorptionsrate sowie Gewicht, SSL und Schädelmaße der Feten ein.

Die relative präimplantative Verlustrate (rV) ist definiert als das Verhältnis von : Differenz aus Anzahl der Gelbkörper (G) und Implantationen (I) zu Anzahl der Gelbkörper

$$rV = G - I / G$$

Die relative Resorptionsrate (rR) ergibt sich als Verhältnis von : Differenz aus Anzahl der Implantationen (I) und lebenden Feten (F) zu Anzahl der Implantationen

$$rR = I - F / I$$

Für den statistischen Vergleich zwischen Alkohol - und Kontrollgruppe wurde der parametrische Zwei - Stichproben - t - Test gewählt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p = 0.05$ festgelegt.

Die Auswertung der Daten Gewicht, SSL und Schädelmaße der Feten wurde für die linke und rechte Uterushälfte getrennt durchgeführt. Diesem Vorgehen liegt die Erfahrung aus Versuchen mit Kaninchen zugrunde, daß die Anzahl der Feten einer jeden Uterusseite Skelettmaße und Körpergewicht des einzelnen Feten beeinflußt. In der Regel findet sich eine negative Korrelation, die sich jedoch in der vorliegenden Studie nicht bei allen gewählten Parametern zeigte.

Als statistisches Verfahren wurde aufgrund genannter Korrelation eine Varianz - Kovarianz - Analyse gewählt. Kovariante ist die Anzahl der Feten, d.h. es werden die vom Einfluß der Fetenzahl bereinigten (korrigierten) Mittelwerte berechnet und verglichen. Nach statistischen Regeln stellen nicht die einzelnen Feten, sondern nur die linken bzw. rechten Uterushälften eine Stichprobe unabhängiger Probanden dar. Somit

dienten als Zielgrößen die Mittelwerte der entsprechenden Parameter über die Feten der linken bzw. rechten Uterusseite eines jeden Muttertieres. Das Signifikanzniveau wurde auf p = 0.05 festgelegt.

4.7. Blutalkoholbestimmungen

Nach 60 Tagen Alkoholgabe, am 9./10. Tag und 27./28. Tag der Schwangerschaft wurden bei Versuchstieren Blutalkoholspiegel gaschromatographisch (Gaschromatograph Typ Perkin Elmer " F 40 ", Head Space Methode, automatische Probenentnahme) bestimmt. Die festgelegten Zeiten waren 10, 16, 22 und 6 Uhr. Von den für die Blutalkoholbestimmung zufällig ausgewählten 15 Tieren konnten nur 7 erfolgreich gedeckt werden. Bei diesen 7 Tieren wurden die Konzentrationsmessungen während der Schwangerschaft durchgeführt.

In der Darstellung der Ergebnisse wurden die gemessenen Werte für jedes Tier einzeln aufgeführt. Eine Mittelwertbildung wurde wegen der großen Streubreite der gewonnenen Daten abgelehnt.

5. Ergebnisse

5.1. Täglicher Flüssigkeits - und Futterverbrauch

15 Kaninchen, die 15% igen Alkohol als einzige Flüssigkeit erhielten, nahmen während der Versuchszeit am Tage durchschnittlich 1oo ml - 15o ml auf. Die Flüssigkeitsaufnahme der Kontrolltiere lag mit 45o ml - 55o ml / Tag um das 3 - 5 fache höher. Die genannten Zahlen treffen sowohl für die Zeit vor wie auch während der Schwangerschaft zu.

Nach 3o und nach 6o Tagen Alkoholaufnahme wurde vier der Kaninchen mit dem höchsten Alkoholkonsum neben dem 15% igen Alkohol reines Wasser angeboten. Auf diese Weise sollte untersucht werden, inwieweit schon eine Gewöhnung der Tiere an den Alkohol eingetreten war. Nach spätestens 1.5 Tagen tranken alle 4 Tiere nur noch reines Wasser. Eine Alkoholabhängigkeit konnte somit innerhalb des gewählten Zeitraumes nicht erreicht werden.

Die tägliche Futteraufnahme der mit Alkohol behandelten Tiere lag mit 1oo g - 12o g deutlich unter dem Verbrauch der Kontrolltiere mit 17o g - 22o g.

5.2. Blutalkoholspiegel

Die im Blut gemessenen Alkoholkonzentrationen nach 6o Tagen Alkoholaufnahme (siehe Tab. 2a) lagen zwischen einem Minimalwert von 2 mg/1oo ml bei A_{14} um 1o Uhr und einem Maximalwert von 71 mg/1oo ml bei A_{14} um 16 Uhr.

Die Tiere A_1 und A_7 wurden erfolgreich gedeckt. Die am 9./1o. Gestationstag gemessenen Konzentrationen (siehe Tab. 2b) lagen zwischen 2 mg/1oo ml bei A_7 um 16 Uhr und 78 mg/1oo ml

bei A_1 um 6 Uhr.
Der am 27./28. Gestationstag gemessene Minimalwert betrug 2 mg/1oo ml bei A_3 um 16 Uhr, der Maximalwert 78 mg/1oo ml bei A_6 um 6 Uhr (siehe Tab. 2c).

Aus den Tabellen wird deutlich, daß :

1. zu keinem Zeitpunkt Werte von 1oo mg/1oo ml entsprechend 1‰ gemessenen wurden,
2. ein Tier, das nach 6o Tagen Alkoholaufnahme im Vergleich zu anderen Kaninchen hohe Alkoholwerte erreichte, diese nicht konsequent an allen Meßtagen zeigte (z.B. A_5),
3. die gemessenen Minimalwerte und Maximalwerte immer bei anderen Tieren auftreten. Diese Versuchstiere fielen nicht durch eine relativ größere Alkoholaufnahme auf.

Tab. 1 : Täglicher Flüssigkeits - und Futterverbrauch in der Alkohol - und Kontrollgruppe

Alkoholgruppe = 15 Muttertiere
Kontrollgruppe = 15 Muttertiere

	Alkohol	Kontrolle
Flüssigkeit (ml/Muttertier/Tag)	1oo - 15o	45o - 55o
Futter (g/Muttertier/Tag)	1oo - 12o	17o - 22o

Tab. 2a : Alkoholkonzentrationen im Blut von 15 alkoholbehandelten Muttertieren nach 6o Tagen Alkoholaufnahme Einheit : mg / 1oo ml

Zeit / Tier	1o Uhr	16 Uhr	22 Uhr	6 Uhr
A_1	7	3o	11	25
A_2	5	7	37	41
A_3	39	8	42	22
A_4	8	6	16	21
A_5	8	18	5o	62
A_6	3	8	24	15
A_7	17	17	12	39
A_8	27	4	7	2o
A_9	17	2o	12	39
A_{1o}	5	2	12	9
A_{11}	7	8	2o	15
A_{12}	6	7	17	16
A_{13}	8	6	5	15
A_{14}	2	71	24	44
A_{15}	23	5	8	2o

Tab. 2b : Alkoholkonzentrationen im Blut von 7 schwangeren alkoholbehandelten Muttertieren am 9./1o. Gestationstag
Einheit : mg / 1oo ml

Zeit / Tier	1o Uhr	16 Uhr	22 Uhr	6 Uhr
A_1	47	3o	13	78
A_2	33	4	2o	1o
A_3	8	11	3	25
A_4	21	15	4	11
A_5	45	29	13	34
A_6	11	16	36	2o
A_7	45	2	55	4

Tab. 2c : Alkoholkonzentrationen im Blut von 7 schwangeren alkoholbehandelten Muttertieren am 27./28. Gestationstag
Einheit : mg / 1oo ml

Zeit / Tier	1o Uhr	16 Uhr	22 Uhr	6 Uhr
A_1	18	8	7	24
A_2	11	5	15	1o
A_3	7	2	3o	67
A_4	4	11	12	4
A_5	4	3	8	15
A_6	2o	7	12	78
A_7	32	5	5	71

5.3. Prä - und postimplantative Verluste, Mißbildungen, Retardierungen

5.3.1. Prä - und postimplantative Verluste, Mißbildungen

Alkoholgruppe :

Die insgesamt 134 in den Ovarien gefundenen Gelbkörper verteilen sich auf 15 Muttertiere mit einem Mittelwert von 8.9 pro Muttertier. Die Zahl der im Uterus gelegenen Implantationen beträgt 11o mit einer Durchschnittszahl von 7.3. Aus den 11o Keimanlagen entwickelten sich 89 lebende Feten mit einem Mittelwert von 5.9 pro Muttertier.
Es fanden sich keine mißgebildeten Feten in der Alkoholgruppe.

Kontrollgruppe :

In der Kontrollgruppe fanden sich bei 15 Muttertieren insgesamt 152 Gelbkörper mit einem Mittelwert von 1o.1 pro Muttertier. 135 Implantationen mit einer Durchschnittszahl von 9 pro Muttertier konnten gezählt werden. Hieraus entwickelten sich 131 Feten mit einem Mittelwert von 8.7 pro Muttertier.
In der Kontrollgruppe fand sich ein mißgebildeter Fetus mit Anenzephalus.

Einer mittleren relativen präimplantativen Verlustrate von 17.92% in der Alkoholgruppe stehen 14.21% in der Kontrollgruppe gegenüber. Zwischen diesen Verlustraten besteht kein signifikanter Unterschied ($p > o.o5$).
Zwischen den relativen Resorptionsraten von 16.o9% in der Alkoholgruppe und 2.61% in der Kontrollgruppe konnte jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < o.o5$) festgestellt werden (siehe Tab. 3).

Tab. 3 : Präimplantative Verluste, Resorptionen, Mißbildungen bei den Nachkommen chronisch alkoholisierter weiblicher Kaninchen

	Alkoholgruppe		Kontrollgruppe	
Muttertiere	15		15	
	n	$\bar{n}$	n	$\bar{n}$
Gelbkörper	134	8.9	152	10.1
Implantationen	110	7.3	135	9
lebende Feten	89	5.9	131	8.7
mißgebildete Feten	0	0	1	0.007
relative präimplantative Verlustrate	0.1792 ± 0.0617		0.1421 ± 0.0428	
relative Resorptionsrate	0.1609 ± 0.0537 *		0.0261 ± 0.0143	

* Die relative Resorptionsrate ist im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht ($p < 0.05$)

5.3.2. Gewicht, SSL und Schädelmaße der Feten

Die Ergebnisse der rechten und linken Uterushälfte sind in den Tabellen 4a und 4b zusammengefaßt. In den folgenden Ausführungen stehen die Ergebnisse der linken Uterushälfte in Klammern.

Für die Alkoholgruppe errechnet sich ein mittleres Fetengewicht von 3o.75 g ± o.39 g (31.62 g ± o.39 g). Das Durchschnittsgewicht in der Kontrollgruppe liegt mit 34.45 g ± o.34 g (35.71 g ± o.45 g) über dem Mittelwert der Feten, die dem Alkohol ausgesetzt waren.

Die mittleren Werte der SSL liegen mit 88.15 mm ± 6.49 mm (9o.15 mm ± 9.56 mm) in der Alkoholgruppe geringfügig über den Mittelwerten 87.4o mm ± 6.5o mm (89.72 mm ± 4.31 mm) in der Kontrollgruppe.

Beim Vergleich der Schädelmaße zeigen sich größere Unterschiede zwischen Alkohol - und Kontrollgruppe als bei Fetengewicht und SSL :

S_1 nimmt bei der Alkoholgruppe einen mittleren Wert von 27.75 mm ± 3.26 mm (27.38 mm ± 3.61 mm), bei der Kontrollgruppe einen Wert von 28.86 mm ± 3.99 mm (28.72 mm ± 1.56 mm) an.
S_2 liegt mit einem Mittelwert von 25.22 mm ± 2.58 mm (24.87 mm ± 4.o8 mm) in der Alkoholgruppe unter dem errechneten Wert von 26.36 mm ± 3.59 mm (26.o8 mm ± 1.5o mm) in der Kontrollgruppe.
Bei S_3 lauten die Mittelwerte in der Alkoholgruppe 6.o2 mm ± 1.69 mm (6.o7 mm ± 1.43 mm), in der Kontrollgruppe 6.58 mm ± 1.25 mm (6.37 mm ± o.62 mm).
Bei S_4 liegt der Mittelwert in der Alkoholgruppe mit 14.58 mm ± 1.99 (14.49 mm ± 2.37 mm) unter dem Mittelwert von 15.15 mm ± 2.36 mm (15.oo mm ± 1.45 mm) in der Kontroll-

gruppe.
S_5 weicht in der Alkoholgruppe gegenüber der Kontrollgruppe in die gleiche Richtung ab wie die anderen Schädelmaße. Die Werte liegen bei 15.12 mm ± 1.34 mm (15.11 mm ± 2.27 mm) bzw. 15.62 mm ± 1.64 mm (15.59 mm ± 1.55 mm).
Die Differenzen von S_1 und S_2 liegen mit ihren Durchschnittswerten von 2.52 mm ± 1.56 mm (2.51 mm ± 1.42 mm) in der Alkoholgruppe bzw. 2.5o mm ± 1.56 mm (2.54 mm ± 1.15 mm) in der Kontrollgruppe eng beieinander.
Für den Quotienten aus S_2 und S_3 errechnet sich in der Alkoholgruppe ein Durchschnittswert von 4.23 ± o.37 (4.12 ± o.21), in der Kontrollgruppe ein Wert von 4.o1 ± o.15 (4.1o ± o.13). Auffällig ist hier der große Unterschied zwischen rechter und linker Uterushälfte, der nicht erklärt werden kann.

Der formale Vergleich der in den Tabellen 4a und 4b angegebenen p - Werte mit einem Niveau von o.o5 läßt bei den für die rechte Uterushälfte berechneten Größen S_1, S_2, S_3, S_4, S_5 und S_2 / S_3 einen Einfluß des Alkohols auf diese Parameter vermuten. Bei einem formalen Vergleich der für die linke Uterushälfte errechneten p - Werte mit einem Niveau von o.o5 liegen nur die p - Werte bei S_1 und S_2 unter o.o5.

Tab. 4a : Mittelwerte von Gewicht, SSL und Schädelmaßen der Kaninchenfeten chronisch alkoholisierter Muttertiere
(rechte Uterushälfte) n.-k. = nicht korrigierte Werte
k. = korrigierte Werte

	Alkoholgruppe			Kontrollgruppe			
	$\bar{m}$		$S\bar{m}$	$\bar{m}$		$S\bar{m}$	p - Wert
	n.-k.	k.		n.-k.	k.		
Gew./g	31.49	30.75	0.39	33.80	34.45	0.34	0.0728
SSL/mm	89.12	88.15	6.49	86.56	87.40	6.50	0.7501
S_1/mm	27.83	27.75	3.26	28.78	28.86	3.99	0.0206 *
S_2/mm	25.31	25.22	2.88	26.29	26.36	3.59	0.0086 *
S_3/mm	6.07	6.02	1.69	6.54	6.58	1.25	0.0032 *
S_4/mm	14.64	14.58	1.99	15.10	15.15	2.36	0.0442 *
S_5/mm	15.16	15.12	1.34	15.58	15.62	1.64	0.0101 *
S_1-S_2/mm	2.52	2.52	1.56	2.50	2.50	1.56	0.8983
S_2/S_3	4.21	4.23	0.37	4.02	4.01	0.15	0.0428 *

* Statistisch signifikante Unterschiede zwischen Versuch und Kontrolle ($p < 0.05$)

Tab. 4b : Mittelwerte von Gewicht, SSL und Schädelmaßen der Kaninchenfeten chronisch alkoholisierter Muttertiere
(linke Uterushälfte) n.-k. = nicht korrigierte Werte
k. = korrigierte Werte

	Alkoholgruppe			Kontrollgruppe			
	$\bar{m}$		$S\bar{m}$	$\bar{m}$		$S\bar{m}$	p - Wert
	n.-k.	k.		n.-k.	k.		
Gew./g	32.74	31.62	0.39	34.42	35.71	0.45	0.1066
SSL/mm	91.85	90.15	9.56	87.76	89.72	4.31	0.8993
S_1/mm	27.46	27.38	3.61	28.63	28.72	1.56	0.0043 *
S_2/mm	24.84	24.87	4.08	26.12	26.08	1.50	0.0172 *
S_3/mm	5.99	6.07	1.43	6.46	6.37	0.62	0.0757
S_4/mm	14.55	14.49	2.37	14.93	15.00	1.45	0.0922
S_5/mm	15.18	15.11	2.27	15.50	15.59	1.55	0.1087
S_1-S_2/mm	2.62	2.51	1.42	2.51	2.54	1.15	0.4819
S_2/S_3	4.16	4.12	0.21	4.05	4.10	0.13	0.8652

* Statistisch signifikante Unterschiede zwischen Versuch und Kontrolle ($p < 0.05$)

6. Diskussion

Aufnahme von 15% igem Alkohol durch das Neuseeländer - Kaninchen ab dem 75. bis 118. Tag vor und während einer Schwangerschaftsdauer von 28 Tagen führte nicht zur Ausbildung eines erkennbaren Mißbildungssyndroms bei den Nachkommen im Sinne der von Chernoff (1977) bei Mäusen beschriebenen Alkoholembryopathie. In Ergänzung zu Schwetz et al. (Verabreichung von 15% igem Alkohol vom 6. bis 18. Gestationstag) konnte somit eine durch chronischen mütterlichen Alkoholkonsum bedingte sichtbare Embryopathie nicht beobachtet werden.
Retardierungen in Form verkürzter Schädelmaße sowie eine erhöhte Resorptionsrate geben jedoch deutliche Hinweise auf einen embryo - bzw. fetoletalen sowie wachstumsretardierenden Effekt des chronischen Alkoholgenusses durch das Muttertier beim Kaninchen.

6.1. Diskussion der Einflußgrößen auf die Datengewinnung

Für die Diskussion der in der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnisse sind folgende Einflußgrößen zu berücksichtigen :

6.1.1. Art der Alkoholverabreichung

Seit 1977 haben sich in teratologischen Studien zur Alkoholembryopathie vor allem folgende zwei Methoden etabliert :

Methode 1 : Alkohol im Trinkwasser
Methode 2 : Alkohol als Bestandteil einer Flüssigdiät

In der vorliegenden Untersuchung wurde Methode 1 mit der Absicht gewählt, eine dem menschlichen Trinkverhalten ähnliche Situation zu schaffen. Die Tiere bestimmen die täg-

liche Flüssigkeits - und damit Alkoholaufnahme selbst. Nahrungsaufnahme erfolgt unabhängig vom Alkoholkonsum.

Im Gegensatz zu Methode 1 steht die von Chernoff (1977) angewandte Methode 2, bei der Alkohol einen bestimmten Prozentsatz Kalorien in einer balancierten Flüssigdiät ersetzt. Bei jeder Alkoholaufnahme werden die Tiere zur gleichzeitigen Nahrungsaufnahme gezwungen und umgekehrt. Hierbei werden Bedingungen geschaffen, die menschlichen Situationen betreffs Alkoholkonsum nicht entsprechen.
Kontrolltiere erhalten anstelle von Alkohol Kalorienersatz in Form von Zucker. Dieses Verfahren wird im englischen Sprachgebrauch " pair - feeding " genannt.

Chernoff (1977) und Randall (1977) sehen den Vorteil einer Flüssigdiät vor allem darin, den Einfluß von Fehl - und Mangelernährung auf Embryonal - und Fetalentwicklung so klein wie möglich zu halten.
Den Vorstellungen Chernoffs ist entgegenzuhalten, daß es sich hierbei um ein unphysiologisches und mit dem menschlichen Alkoholismus nicht vergleichbares Vorgehen handelt. Besser erscheint Methode 1, da sie, wie oben erwähnt, Bedingungen verlangt, wie sie weitgehend in menschlichen Situationen vorzufinden sind. Fehl - und Mangelernährung als störende Einflußgrößen lassen sich bei Methode 1 nicht ausschließen. Es wurde auch nicht beabsichtigt, diese Phänomene zu eliminieren, da sie beim Menschen nie vom chronischen Alkoholismus zu trennen sind. Darüberhinaus sprechen Erfahrungen aus der Zeit nach dem 2. Weltkrieg gegen eine teratogene Wirksamkeit von Fehl - und Mangelernährung (Smith 1947).

Sinn und Zweck des sogenannten " pair - feeding " müssen in tierexperimentellen Studien zur Alkoholembryopathie ebenfalls in Frage gestellt werden. Wie oben dargestellt, wird bei diesem Verfahren Alkohol in der Flüssigdiät der Kon-

trollgruppe isokalorisch durch Zucker ersetzt. Diese in Bezug auf die Kalorienzahl analoge Ernährung von Versuch und Kontrolle erlaubt nach Chernoff (1977) eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse.

Der Anspruch Chernoffs an das sogenannte " pair - feeding " muß jedoch in Frage gestellt werden, da nicht die Höhe der Kalorien , sondern vor allem Metaboliten und Stoffwechselwirkung der aufgenommenen Nahrungsstoffe Embryonal - und Fetalentwicklung maßgeblich beeinflussen (Kesäniemi, 1975; Veghelyi, 1978; Majewski, 1979). Vornehmlich in Bezug auf die Alkoholembryopathie muß der Anspruch Chernoffs überdacht werden, da nicht nur der Alkohol, sondern auch seine Metaboliten und Auswirkungen auf den Leberstoffwechsel als mögliche teratogene Noxen diskutiert werden. Stoffwechselprodukte und - wirkungen von Alkohol unterscheiden sich jedoch weitgehend von denen des Zuckers.
Der Anspruch besserer Vergleichbarkeit der Daten zwischen Versuch und Kontrolle bei Ersatz des Alkohols durch Zucker kann somit nicht erhoben werden.

Neben den genannten Vorteilen bietet die Methode 1 darüberhinaus die einfache Möglichkeit, bei gleichzeitigem Angebot von Alkohol und reinem Wasser die Alkoholabhängigkeit der Tiere zu ermessen. Wiederholte Versuche, die Tiere täglich frei zwischen Alkohol und reinem Wasser wählen zu lassen, scheiterten in der vorliegenden Studie. Die Muttertiere konsumierten spätestens nach 1.5 Tagen nur Wasser. Alkoholabhängigkeit konnte somit im gewählten Behandlungszeitraum nicht beobachtet werden.
Im Gegensatz zu Dexter et al. (1980), der in einem Behandlungszeitraum von 1.5 bzw. 2.5 Jahren bei Sinclair (S - 1) Miniaturschweinen freiwilligen Alkoholkonsum erreichen konnte, diente in der vorliegenden Studie das Wasser - Alkohol - Gemisch als einzige Flüssigkeitsquelle, um eine Alkoholauf-

nahme zu garantieren. Dieses Vorgehen entspricht zwar nicht der genannten Absicht, eine soweit wie möglich auf den Menschen übertragbare Situation zu schaffen. Die Beobachtung einer fehlenden Alkoholabhängigkeit läßt jedoch andererseits eine vorsichtige Zuordnung der alkoholisierten Kaninchen zu dem von Jellinek (1946, 1960) definierten Prodromalstadium zu (siehe 1.3.).
Die Prodromalphase ist das Übergangsstadium zur eigentlichen Alkoholkrankheit mit kritischer und chronischer Phase. Die Kaninchen trinken regelmäßig Alkohol, wie es typisch für die Stadien der eigentlichen Alkoholkrankheit ist. Fehlende Alkoholabhängigkeit sowie völlig unauffälliges Verhalten erlauben es jedoch nicht, sie als manifest alkoholkrank und damit in die kritische oder chronische Phase einzuordnen.

Bei einer solchen Zuordnung von Versuchstieren zu den Stadien des menschlichen Alkoholismus muß immer berücksichtigt werden, daß diese Stadien nicht nur durch organische und objektiv erkennbare, sondern vor allem durch psychische Faktoren typisiert sind, welche für den Menschen, nicht aber für das Versuchstier beschrieben werden. Diese Tatsache darf bei der Übertragung am Tier gewonnener Daten auf den Menschen nicht vergessen werden.

6.1.2. Höhe der Alkoholaufnahme und Blutalkoholspiegel

Die mittlere tägliche Trinkmenge der alkoholbehandelten Tiere betrug 130 ml 15% igen Alkohols entsprechend 5.8ml/kg/KG reinen Alkohols. Schwetz et al. (1978), die Kaninchen, Ratten und Mäuse vergleichend untersuchten, fanden beim Kaninchen mit 3ml/kg/KG einen ähnlich niedrigen Alkoholkonsum. Die Trinkmenge der Mäuse bzw. Ratten hingegen lag mit 25ml/kg/KG bzw. 10ml/kg/KG weit über der der Kaninchen.

Die täglich getrunkene Alkoholmenge allein ist jedoch kein verläßlicher Indikator für den Zustand der Mutter. Aussagekräftiger ist der Blutalkoholspiegel, der vom mütterlichen Stoffwechsel und seinen pharmakokinetischen Eigenschaften abhängt. Diese Eigenschaften unterliegen genetischer Kontrolle und zeigen interindividuelle Unterschiede (Chernoff, 198o; Abel, 198o). Chernoff (198o) hat Stammesunterschiede bezüglich Pharmakokinetik an CBA - und C3H - Mäusen untersucht. Hierbei erreichten CBA - Mäuse trotz gleicher Alkoholaufnahme höhere Blutalkoholspiegel.

Aus genannten Gründen wurden in der vorliegenden Untersuchung Blutalkoholspiegel vier Mal / Tag zu festgelegten Zeitpunkten bestimmt.(siehe 4.7.). Eine Messung vier Mal, zwei Mal oder nur ein Mal / Tag, wie hier und in anderen Tierstudien vorgenommen (Randall, 1977; Chernoff, 1977; Øisund, 1978; Schwetz, 1978; Ellis et al., 198o) erlaubt jedoch keine absolute Aussage über tatsächlich erreichte Maximalwerte. Es ist möglich, daß Höchstwerte dann nicht erfaßt wurden, wenn sich die Tiere entweder in der Phase der noch laufenden Resorption oder in der Phase des schon fortgeschrittenen Abbaus von Alkohol befanden. Eindeutig wäre eine Datengewinnung nur bei kontinuierlicher Alkoholkonzentrationsbestimmung. Aus organisatorischen wie aus Gründen sekundärer Effekte auf die Embryonalentwicklung durch streßvolle Tierhaltung (Abel, 198o) ist eine solche Messung für teratogene Studien zur Alkoholembryopathie nicht geeignet.
Trotz der genannten Nachteile einer diskontinuierlichen Blutalkoholmessung kann im vorliegenden Falle bei mehrfachem Auftreten von Höchstwerten um o.75%o angenommen werden, daß es sich hierbei annähernd um Spitzenwerte handelt.

In Übereinstimmung mit Schwetz et al. (1978) liegen die in den Tabellen 2a, 2b, 2c aufgelisteten Blutalkoholwerte beim

Kaninchen weit unter den Konzentrationen, die Chernoff (1977) und Schwetz (1978) bei der Maus messen konnten (siehe 2.3.). Diese Differenz kann zum ersten mit dem relativ niedrigen Alkoholkonsum der Kaninchen erklärt werden. Als weitere Ursachen müssen unterschiedlich hohe Aktivitäten der alkoholabbauenden Enzymsysteme diskutiert werden.

Ellis et al. (1979) bestimmten in ihrer Tierstudie an Beagle - Hunden bei einem dem Kaninchen vergleichbaren Alkoholkonsum Blutalkoholwerte um 1.7‰ bis 2.0‰. Neben pharmakokinetischen Unterschieden zwischen den Versuchstieren müssen hier vor allem die verschiedenen Applikationsweisen von Alkohol berücksichtigt werden. Die Verabreichung von hohen Einzeldosen durch eine liegende Magensonde, wie von Ellis et al. (1979) vorgenommen, erklärt die im Gegensatz zu durch andere Applikationsarten erreichten sehr hohen Blutalkoholwerte.
Vergleiche zwischen Blutalkoholwerten müssen somit, wie aus den genannten Beispielen erkennbar, immer unter Berücksichtigung der Art des Versuchstieres, der aufgenommenen Alkoholmenge und der Applikationsweise gezogen werden.

Die in der vorliegenden Untersuchung gemessenen Blutalkoholspiegel liegen unter dem Minimalwert von 1‰, der vom sogenannten " Criteria Committee 1972 " zur Diagnose des chronischen Alkoholismus beim Menschen gefordert wird. So wird in Anlehnung an Øisund (1978) und Chernoff (1977) der chronische Alkoholkonsum der Kaninchen aufgrund niedriger Alkoholmengen und Blutalkoholspiegel unter 1‰ als mäßig eingestuft.

6.2. Beurteilung statistisch ausgewerteter Daten

6.2.1. Resorptionsrate und präimplantative Verlustrate

Die vorliegenden Daten einer statistisch signifikant erhöhten Resorptionsrate in der Alkoholgruppe deuten auf eine em-

bryo - bzw. fetoletale Wirksamkeit von Alkohol beim Neuseeländer - Kaninchen hin. Dieses Ergebnis bestätigt Beobachtungen vermehrt auftretender Resorptionen bzw. Aborte infolge chronischen und akuten Alkoholabusus in zahlreichen tierexperimentellen und klinischen Studien (Papara - Nicholson, 1957; Kronick, 1976; Chernoff, 1977, 198o; Randall et al., 1977; Henderson et al., 1979; Ellis et al.,1979; Dexter et al., 1979; Brock - Merle, 1981; Harlap et al., 198o; Kline et al.,198o).
Während die Frage nach dem Vorkommen alkoholbedingter Mißbildungen und Wachstumsretardierungen von den erwähnten Autoren ausgesprochen gegensätzlich beantwortet wird, findet sich auffällige Übereinstimmung bei der Feststellung erhöhter Resorptionsraten. Die embryo - bzw. fetoletale Wirksamkeit von Alkohol bei chronischen und kurzzeitigem mütterlichen Konsum scheint somit unbestritten.

Klinische Studien von Harlap et al. (198o) und Kline et al. (198o) betonen die erhöhte Gefahr von Aborten schon durch geringe Mengen Alkohol. Diese Erfahrungen beim Menschen werden durch die Daten der vorliegenden Arbeit sowie durch Schwetz et al. (1978) und Øisund et al. (1978) in ihren Experimenten an Kaninchen bzw. Ratten bestätigt.

Können Alkohol oder seine Metaboliten als die wirklich maßgebliche Ursache für erhöhte Abort - bzw. Resorptionsraten in den genannten Studien angesehen werden oder sind andere Faktoren als ursächliches Agens zu berücksichtigen?
Die Humanmedizin beschreibt Aborte als unspezifische Reaktion auf zahlreiche äußere und innere störende Einflüsse. Chronische Vergiftungen durch Schwermetalle sowie Drogen - , Nikotin - und Alkoholabusus werden heute mehr denn je als Ursache für Aborte diskutiert. Im Falle der vorliegenden Studie zur Alkoholembryopathie können jedoch die Einwirkung von Schwermetallen, Drogen und Nikotin sowie embryoletale Infektionen ausgeschlossen werden.

Die von Schwetz et al. (1978) als Resorptionsursache erörterte Mangelernährung alkoholisierter Tiere wird in klinischen Studien (Smith, 1947) nicht ausdrücklich erwähnt. Alkohol, seine Stoffwechselprodukte oder alkoholbedingte Störungen der fetoplazentaren Einheit sind somit in der vorliegenden Untersuchung als maßgebliche Ursache für die erhöhten Resorptionsraten innerhalb der Alkoholgruppe anzusehen.

Neben der embryo - bzw. fetoletalen Wirksamkeit von Alkohol, erkennbar an Resorptionen, interessierte die Frage nach alkoholbedingten präimplantativen Verlusten. Es wäre denkbar, daß Alkohol schon vor Einnistung des Keims in die Uterusschleimhaut dessen Entwicklung hemmt und ihn zerstört. Eine scheinbar verminderte weibliche Fertilität wäre unter solchen Umständen mit regelmäßigem Alkoholkonsum in der präimplantativen zu erklären.
Die Daten der vorliegenden Arbeit (siehe Tab. 3) sprechen gegen einen statistisch signifikanten Einfluß von Alkohol auf diesen Entwicklungsabschnitt beim Kaninchen.
Unter Berücksichtigung des relativ geringen Alkoholkonsums wird somit festgestellt, daß das Vorhandensein eines fetoplazentaren Kreislaufs Bedingung ist für einen letalen Effekt von Alkohol auf die Nachkommen des Neuseeländer - Kaninchens.

6.2.2. Mißbildungen

Bei eingehender und nach einem festgelegten Schema (siehe 4.5.) ablaufender makroskopischer Untersuchung der Feten wurden keine Mißbildungen beobachtet. Mäßiger Alkoholgenuß vor und während der Schwangerschaft ließ somit beim Kaninchen eine äußerlich erkennbare Embryopathie nicht entstehen. Øisund (1978) und Schwetz et al. (1978) werden durch die gewonnen Daten in soweit bestätigt, als sie an den Nachkommen von Ratten und Kaninchen mit bescheidenem Alkoholkonsum ebenfalls keine Mißbildungen beobachten konnten.

Wird die Einordnung der Kaninchen in die Prodromalphase des menschlichen Alkoholismus, wie oben vorgenommen, zugrunde gelegt, so zeigen sich auch Übereinstimmungen mit klinischen Studien. Majewski (1979) fand bei den Nachkommen von Müttern in der Prodromalphase keine Zeichen eines Mißbildungssyndroms.

6.2.3. Gewicht, SSL, Schädelmaße

Intrauterine Hypotrophie in Form signifikant verringerten Gewichtes und verkürzter SSL bei den Nachkommen alkoholbehandelter Muttertiere wurde in der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet. Auffällig hingegen sind die verkürzten Schädelmaße der alkoholexponierten Nachkommen, welche bei äußerer Inspektion der Feten nicht auffielen. Statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) ziehen sich nicht konsequent durch die Reihe der Ergebnisse, deutliche Tendenzen zu negativ veränderten Schädelmaßen sind jedoch bei den gewählten Parametern S1 - S5 unverkennbar.

Verkleinerung von Umfang und Inhalt des Schädels im Vergleich zu den Größenverhältnissen der übrigen Körperteile wird als Mikrozephalie bezeichnet. Verringertes Gewicht, verkürzte SSL und Mikrozephalie sind häufig die einzigen Symptome bei geringem Schädigungsgrad durch chronischen mütterlichen Alkoholismus (Majewski, 1979).
Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, daß Schädelmaße weitaus empfindlicher und in einem früheren Stadium des Alkoholismus negativ reagieren als Gewicht und SSL.

Für klinische Studien sind diese am Neuseeländer - Kaninchen gemachten Beobachtungen in soweit sehr interessant, als Kinder ohne äußerlich erkennbare Zeichen der Hypotrophie und Mikrozephalie als durch chronischen mütterlichen Alkoholismus nicht geschädigt eingestuft werden. Eingehendere Untersuchun-

gen, wie bei der vorliegenden Studie durch Vermessung geröntgter Schädel vorgenommen, könnten hier auf leichtere Schädigungsgrade hinweisen. Die Nichtbeachtung sogenannter sehr früher Zeichen der Alkoholembryopathie, wie sie aufgrund vorliegender Ergebnisse schon für die Prodromalphase befürchtet werden müssen, birgt die Gefahr in sich, das Vorläuferstadium der mütterlichen Alkoholkrankheit als für die embryonale und fetale Entwicklung ungefährlich einzustufen.

Mikrozephalie gilt als relativ unspezifisches Zeichen embryonaler und fetaler Entwicklungsstörung. Ursächlich müssen Alkohol, Nikotin - und Medikamentenabusus, Viruserkrankungen, Röntgenbestrahlung sowie Fehl - und Mangelernährung berücksichtigt werden (Keller - Wiskott, 1977; Oulette und Rosett, 1976; Stoch und Smythe, 1963).

In der vorliegenden Studie kommen Nikotin - und Medikamentenabusus, Röntgenstrahlen sowie Viruserkrankungen als Ursachen nicht in Frage. Fehl - und Mangelernährung neben Alkohol als schädigende Faktoren müssen hingegen in Betracht gezogen werden.

Klinische Beobachtungen von Stoch und Smythe (1963) sprechen dafür, daß das Körpergewicht weitaus empfindlicher auf Fehl - und Mangelernährung reagiert als die Kopfgröße. Diese Erfahrung weist darauf hin, daß im vorliegenden Fall Alkohol direkt oder indirekt als entscheidender pathogenetischer Faktor für verkürzte Schädelmaße in Frage kommt.
Aus folgenden Gründen sind die klinischen Beobachtungen von Stoch und Smythe (1963) jedoch nicht unmittelbar auf die tierexperimentelle Studie am Kaninchen übertragbar :

1. Die Beobachtungsobjekte sind verschieden
(Mensch - Tier)

2. Die Beobachtungszeiträume unterscheiden sich
(Postnatalzeit - Pränatalzeit)

Im Gegensatz zur Postnatalzeit ist das heranwachsende Individuum in der Pränatalzeit nur indirekt über den mütterlichen Organismus und die Plazenta der Fehl - und Mangelernährung ausgesetzt. Ob mütterliche Mangelernährung in gleicher Weise wie postnatale Mangelernährung die Untergewichtigkeit stärker fördert als die Ausbildung einer Mikrozephalie, kann aus den klinischen Beobachtungen von Stoch und Smythe (1963) nicht unmittelbar entnommen werden. Die Genese der verkürzten Schädelmaße kann somit nicht eindeutig geklärt, sondern nur, wie oben erwähnt, vermutet werden.

Anders als in der vorliegenden Studie fielen die Ergebnisse in der Untersuchung von Brock - Merle (1981) am Kaninchen aus. Er prüfte die embryoletale, teratogene und wachstumsretardierende Potenz von Alkohol mit der Dottersackmethode (siehe 2.3.). In beiden Untersuchungen wurden die gleichen fetalen Parameter ausgewertet.

Der Vergleich beider Arbeiten führt zu folgenden Schlußfolgerungen : Alkohol allein kann in sehr hoher Dosierung letal und teratogen wirken. Bei der von Brock - Merle (1981) gewählten 8o ul Dosis wurden jedoch in der Dottersackflüssigkeit Alkoholkonzentrationen erreicht, die für menschliche Verhältnisse irrelevant hoch sind.
Den Retardierungen in Schädelgrößen, wie sie von Brock - Merle (1981) nicht beobachtet wurden, liegen augenscheinlich komplexere Vorgänge als nur die einmalige direkte Alkoholwirkung zugrunde. Wie aus den vorliegenden Daten ableitbar, verlangt die Ausbildung einer Mikrozephalie als eines der bekannten Retardierungszeichen erstens eine längerdauernde Alkoholeinwirkung und zweitens die Einschaltung des mütterlichen Organismus mit der Bildung von Alkoholmetaboliten. Es ist

wohl gerade die chronische Alkoholaufnahme, die über mütterliche Stoffwechselstörungen und bzw. oder Plazentafunktionsstörungen fetale Wachstumretardierungen bewirken kann.

Der Vergleich der am Kaninchen durchgeführten Studien läßt den Schluß zu, daß die indirekte Alkoholwirkung als ausgesprochen bedeutungsvoll für die Pathogenese der Alkoholembryopathie anzusehen ist.

6.3. Zusammenfassende Beurteilung der Untersuchungsergebnisse

Teilweise statistisch signifikant verkürzte ($p < 0.05$), teilweise nur deutlich verminderte Schädelmaße wurden bei eingehender Vermessung geröntgter Schädel von Kaninchenfeten chronisch alkoholisierter Muttertiere gefunden. Die Muttertiere tranken täglich Alkohol, waren jedoch nicht alkoholabhängig. Sie befanden sich somit in der Prodromalphase der Alkoholkrankheit, soweit dieser Begriff auf Tiere übertragbar ist.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß eine kontinuierliche mäßige Aufnahme von Alkohol vor und während der Schwangerschaft als Risikofaktor für die embryonale und fetale Schädelentwicklung angesehen werden muß, auch wenn keine Alkoholabhängigkeit nachweisbar ist.
Es gilt dringend, dieses beim Kaninchen beobachtete Ergebnis auf seine Gültigkeit für den Menschen zu prüfen.

7. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde Äthylalkohol auf seine Embryotoxizität beim Kaninchen nach chronischer Applikation untersucht.

Dazu wurde Weißen Neuseeländerinnen ab dem 75. bis 118. Tag vor und während einer Schwangerschaftsdauer von 28 Tagen 15% iger Alkohol in ihrem Trinkwasser verabreicht. Alkohol - und Futterverbrauch wurden regelmäßig notiert.
Nach 6o Tagen Alkoholaufnahme sowie am 9./1o. und 27./28. Gestationstag wurden Blutproben zur Alkoholkonzentrationsbestimmung entnommen. Die höchsten Meßwerte lagen bei 78 mg/ 1oo ml.

Am 28. Tag der Gestation wurden die Muttertiere getötet, Ovarien und Uterus entnommen und die Gebärmutter eröffnet. Zahl der Gelbkörper, Resorptionen und lebende Feten sowie fetale Gewichte und Scheitel - Steiß - Längen wurden notiert. Danach erfolgte die Präparation der Feten, wobei auf Mißbildungen geachtet wurde. Zum Zwecke einer eingehenderen Untersuchung der Feten auf Skelettveränderungen wurden Rumpfskelett, Extremitäten und Schädel geröntgt und die geröntgten Schädel vermessen.

Mißbildungen wurden in der Alkoholgruppe nicht beobachtet; die präimplantative Verlustrate, fetales Gewicht und fetale SSL zeigten im Vergleich zur Kontrolle keine statistisch signifikanten Unterschiede. Auffällig waren demgegenüber eine signifikant erhöhte relative Resorptionsrate und verkürzte fetale Schädelmaße.

Unter den Bedingungen der vorliegenden Untersuchung wurde somit eine embryoletale und wachstumsretardierende, nicht aber

teratogene Wirksamkeit von Äthylalkohol beim Kaninchen erkennbar. Dabei zeigten sich im Gegensatz zu anderen Tierstudien die retardierenden Effekte nicht an fetalem Gewicht und fetaler SSL, sondern nur am Schädel.

8. Literatur

ABEL, E.L. : 1980
Procedural considerations in evaluating prenatal effects of alcohol in animals. Neurobehavioral Toxicology 2 : 167 - 174

BROCK - MERLE, K. : 1981
Untersuchung zur teratogenen Wirkung von Äthylalkohol auf den Kaninchenembryo nach Anwendung der Dottersackmethode. Dissertation (aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie, Düsseldorf)

BROWN, N.A.; E.H. GOULDING; S. FABRO : 1979
Ethanol embryotoxicity : Direct effects on mammalian embryos in vitro. Science 206 : 573 - 575

CHERNOFF, G.F. : 1977
The fetal alcohol syndrome in mice : An animal model. Teratology 13 : 223 - 239

CHERNOFF, G.F. : 1980
The fetal alcohol syndrome in mice : Maternal variables. Teratology 22 : 71 - 75

CLAUSSEN, U.; C.D. BROEDERSDORFF : 1974
Zur teratogenen Wirkung von 6 - Amino - nicotinamid bei Kaninchen nach Injektion in den Dottersack. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 145 : 67 - 73

CLAUSSEN, U. : 1980
Vergleichende Untersuchungen zum embryotoxischen Wirkprinzip von Cyclophosphamid. Habilitationsschrift (aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie, Düsseldorf)

CRITERIA COMMITTEE, National Council on Alcoholism : Criteria for the diagnosis of alcoholism
1972 Ann. Int. Med. 77 : 249 - 258

DEXTER, J.D.; M.E. TUMBLESON; J.D. DECKER; C.C. MIDDLETON : Fetal alcohol syndrome in Sinclair (S - 1) miniature swine.
1980 Alcoholism 4 : 146 - 151

ELLIS, T.W.; J.R. PICK : An animal model of the fetal alcohol syndrome in beagles.
1980 Alcoholism 4 : 123 - 133

FRERE, CH. : Présentation de poulets vivants provenant d'oeufs ayant subi des injections d'alcool ethylique dans l'albumen.
1894 C.R. de la Soc. Biol. 51 : 806

HARLAP, S.; P.H. SHIONO : Alcohol, smoking and incidence of spontaneous abortions in the first and second trimester.
1980 The Lancet, July 26

HENDERSON, G.I.; A.M. HOYUMPA; C. MC CLAIN; S. SCHENKER : The effects of chronic and acute alcohol administration on fetal development in the rat.
1979 Alcoholism 3 : 99 - 106

JELLINEK, E.M. : Phases in the drinking history of alcoholics; analyses of a survey conducted by the official organ of A.A.Q.
1946 QJ Stud. Alcohol 7 : 1-88

JELLINEK, E.M. : The disease concept of alcoholism.
1960 Yale University Press, New Haver

JONES, K.L.; D.W. SMITH; C.N. ULLELAND; A.P. STREISSGUTH :
1973 Pattern of malformations in offspring of chronic alcoholic mothers.
Lancet 1 : 1267 - 1271

KESÄNIEMI, Y.A.; H.W. SIPPEL : Placental and fetal metabolism
1975 of acetaldehyd in rat. 1. Contents of ethanol and acetaldehyd in placenta and foetus of the pregnant rat during ethanol oxidation.
Acta Pharmacol. Toxicol. (Kbh) 37 : 43 - 48

KELLER - WISKOTT : Lehrbuch der Kinderheilkunde
1977 Georg Thieme Verlag Stuttgart

KLINE, J.; P. SHROUT; Z. STEIN; S. MERVYN; D. WARBURTON :
1980 Drinking during pregnancy and spontaneous abortion.
The Lancet, July 26

KRONICK, J.B. : Teratogenetic effects of ethyl alcohol
1976 administration to pregnant mice.
Am. J. Obstet. Gynecol. 124 : 676 - 680

LEMOINE, P.; H. HARONSSEAU; J.P. BORTERYN; J.C. MENNET :
1968 Les enfants de parents alcooliques : Anomalies observées à propos de 127 cas.
Quest. med.25 : 476 - 482

MAJEWSKI, F.; J.R. BIERICH; H.LÖSER; R. MICHAELIS; B. LEIBER; F. BETTECKEN : Zur Klinik und Pathogenese der Alkoholembryopathie (Bericht über 68 Patienten)
1976 Münch. Med. Wochenschr. 118 : 1635 - 1642

MAJEWSKI, F. : Die Alkoholembryopathie : Fakten und Hypothesen
1979 Erg. Innere Medizin, Kinderheilkunde 43 : 1 - 55

MAJEWSKI, F.; T. GOECKE : Alcohol embryopathy : studies in Germany
1981 In : " Fetal Alcohol Syndrome "
CRC Press

ØISUND, J.F.; A.E. FJORDEN; J. MØRLAND : Is moderate ethanol consumption teratogenetic in the rat?
1978 Acta Pharmacol. et Toxicol. 43 : 145 - 155

PAPARA - NICHOLSON, D.; J.R. TELFORD : Effects of alcohol on reproduction and fetal development in the guinea pig.
1957 Anat. Records

PEARL, R. : The experimental modification of germ cells. 2. : The effect upon the domestic fowl of the daily inhalation of ethyl alcohol and certain related substances.
1917 J. Exp. Zool. 22 : 165 - 186

PIKKARAINEN, P.H.; N.C.R. RÄIHÄ : Development of alcohol - dehydrogenase activity in the human liver.
1967 Ped. Res. 1 : 165 - 168

QUELETTE, E.M.; H.L. ROSETT : A pilot prospective study of
1976 the fetal alcohol syndrome at the Boston City Hospital.
Part 2 : The infants
Ann. New York Academy of Sciences :
123 - 128

RANDALL, C.L.; W.J. TAYLOR; D.W. WALKER : Ethanol induced
1977 malformations in mice.
Alcoholism, Vol. 1, No. 3 : 219 - 224

SANDOR, S.; S. ELIAS : The influence of ethyl - alcohol on
1968 the development of the chick - embryo.
Rev. Roum. Embryol. Cytol. Ser. Embryol. 5
51 - 75

SCHWETZ, B.A.; F.A. SMITH; R.E. STAPLES : Teratogenetic po-
1978 tential of ethanol in mice, rats and rabbits.
Teratology 18 : 385 - 392

SMITH, C.J. : Effects of maternal undernutrition upon
1947 the newborn infant in Holland.
J. Pediatr. 3o : 229 - 243

STOCH, M.B.; P.M. SMYTHE : Does undernutrition during in-
1963 fancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development?
Arch. Disease Childhood 38 : 546

STOCKARD, C.R. : The influence of alcohol and other
191o anaesthetics on embryonic development.
Am. J. of Anat. 1o/3 : 369 - 392

STOCKARD, C.R. : 1910 The effect on the offspring of intoxicating the male parent and the transmission of the defects to subsequent generations. The Amer. Naturalist 47/563 : 641 - 681

STOCKARD, C.R. : 1914 The artificial production of eye abnormalities in the chick - embryo. The Anat. Rec. 8/2 : 33 - 41

TZE, W.J.; M. LEE : 1975 Adverse effects of maternal alcohol consumption on pregnancy and fetal growth in rats. Nature 257 : 479 - 480

VEGHELYI, P.V.; M. OSTOVICS; G. KARDOS; L. LEITZNER; E. SZASZOVSKY; S. INGALI; J.IMREI : 1978 The fetal alcohol syndrome : symptoms and pathogenesis. Acta Paed. Acad. Ancient. Hungaricae. 19 : 171 - 189

Danksagung

Herrn Priv. Doz. Dr. U. Claussen danke ich für die Überlassung des Themas, für seine wertvollen Hinweise und Anregungen.

Herrn Prof. Dr. H. Schweitzer (Institut für Rechtsmedizin) möchte ich für die Unterstützung bei der Alkoholkonzentrationsbestimmung danken.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Arbeit gilt mein Dank Herrn Dr. Trampisch und Herrn Dr. Schäfer (Institut für Medizinische Statistik und Biomathematik).

Lebenslauf

Am 27. März 1958 wurde ich, Beate Kreifels, geb. Greulich, als drittes Kind des Facharztes für Orthopädie Dr. med. Erwin Greulich und seiner Ehefrau Dr. med. Gertrude Greulich, geb. Anstoetz in Düsseldorf geboren. Mein Vater verstarb am 13. November 1973. Ich habe zwei Brüder und eine Schwester.

Meine ersten vier Schuljahre verbrachte ich von April 1964 bis Juli 1967 an der Carl - Sonnenschein - Schule, städtische katholische Grundschule in Düsseldorf. Von September 1967 an besuchte ich die St. Ursula - Schule, katholisches Mädchengymnasium in Düsseldorf, wo ich im Mai 1976 die Reifeprüfung bestand.

Im Wintersemester 1976 / 77 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf. Hier legte ich im Oktober 1982 die Ärztliche Prüfung ab.

Seit Dezember 1982 bin ich mit dem Rechtsreferendar Thomas Kreifels verheiratet. Im Sommer dieses Jahres erwarten wir unser erstes Kind.